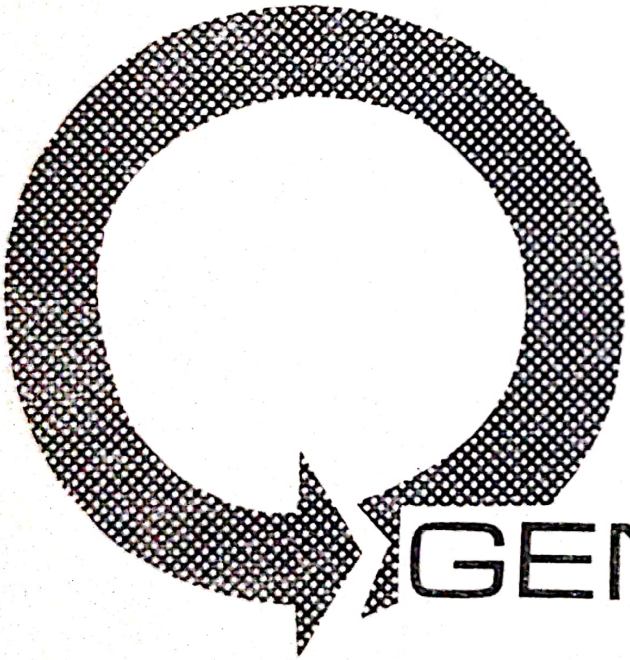
P. RAICU

# GENETICA

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

Conf. univ. dr. PETRE RAICU



# GENETICA

Scanned with OKEN Scanner

# PREFAȚĂ

*Genetica, unul dintre cele mai dinamice domenii ale biologiei, a cunoscut în ultimii ani o dezvoltare furtunoasă. Pe drept cuvînt se poate spune că genetica a devenit „inima biologiei". Una dintre cauzele dezvoltării extraordinare a cercetărilor privind ereditatea organismelor o constituie faptul că în epoca actualei revoluții tehnico-științifice nu mai este posibil progresul într-o serie de domenii (biologie, medicină, agricultură, zootehnie etc.) fără cunoștințe profunde de genetică.*

*Progrese cu totul remarcabile s-au realizat în ultima vreme în genetică mai ales în domeniul studiilor privind ereditatea la nivel celular (citogenetica) și la nivel molecular (genetica moleculară). Dacă în epoca apariției geneticii ca știință, la începutul secolului al XX-lea, factorii ereditari mendelieni erau încă niște unități ipotetice deduse pe baza unor calcule statistico-matematice, în epoca noastră, cu ajutorul metodelor moderne de investigație, s-a pătruns tot mai adînc în intimitatea mecanismului ereditar. S-au realizat astfel pași mari înainte în studiul structurii și funcției cromozomilor și genelor, s-a descoperit ereditatea extracromozomială și parțial mecanismul său, s-au făcut progrese în studiul bazelor biochimice ale eredității, ale codului și reglajului genetic, în cunoașterea mecanismului mole-*

Scanned with OKEN Scanner

cular al procesului mutagen, s-au făcut descoperiri importante în domeniul geneticii populațiilor etc.

Un avînt considerabil s-a realizat însă nu numai în domeniul cercetărilor fundamentale de genetică, ci și în al celor cu aplicații practice în agricultură, zootehnie, medicină, industria fermentativă etc. Caracteristic pentru etapa actuală de dezvoltare a geneticii, este îmbinarea armonioasă a cercetării fundamentale cu cea aplicativă, fenomen care a făcut posibilă nu numai aprofundarea cunoștințelor privind mecanismul eredității, dar și realizarea unor progrese în modificarea sa după necesitățile societății.

Cercetările contemporane de genetică nu numai că au implicații valoroase în numeroase domenii, dar — ceea ce este foarte important — deschid mari perspective de rezolvare a unor probleme fundamentale ale umanității. Astfel se întrevede posibilitatea sintezei artificiale a proteinelor, a explicării apariției și evoluției biochimice a materiei vii, a obținerii de mutații „dirijate", a descoperirii mecanismului genetic al cancerului și altor maladii ce afectează aparatul ereditar uman etc.

În România, unde genetica este o știință cu tradiție, cercetările experimentale și teoretice de genetică au început în ultimii ani să se dezvolte în ritm mai susținut. Primele două simpozioane naționale de genetică, organizate în anul 1964 și respectiv în 1967 la Universitatea din București, au fost manifestări de prestigiu, la care s-au prezentat o seamă de lucrări valoroase și care au contribuit substanțial la buna orientare a cercetărilor de genetică. Într-adevăr, depășind abordarea unilaterală a problemelor, geneticienii români au început studii interesante în diferite domenii ale citogeneticii, radiogeneticii, geneticii populațiilor, geneticii moleculare etc., precum și cercetări cu caracter aplicativ în genetica vegetală, animală și umană.

În condițiile actuale, o dată cu sporirea interesului pentru genetică a unui cerc larg de specialiști și

*a nevoilor studenților biologi, medici și agronomi, s-a pus problema editării unui manual în care să se prezinte sintetic cele mai de seamă probleme ale acestei discipline. Manualul de* Genetică *pe care-l punem la dispoziția cititorului prezintă succint bazele geneticii clasice și moderne, o atenție deosebită acordîndu-se nu numai implicațiilor acestei discipline, ci și perspectivelor nebănuite pe care ea le deschide într-o serie de domenii conexe. Fără a avea pretenția de a epuiza problema, autorul speră că a făcut o muncă utilă și că lucrarea va contribui — modest — la progresul acestei științe în România.*

AUTORUL.

Scanned with OKEN Scanner

# CUPRINS


Prefață ..... 5
Cap. I. **Genetica, știința eredității** ..... 13
Definiție și obiect de studiu ..... 13
Primele observații și cercetări asupra eredității ..... 14
Teoriile corpusculare ale eredității ..... 21
Apariția și dezvoltarea geneticii ..... 26
Cercetările de genetică în România ..... 33

Cap. II. **Legile mendeliene ale segregării** ..... 36
G. Mendel, unul dintre fondatorii geneticii ..... 36
Legea purității gameților ..... 37
Legea segregării independente a caracterelor ..... 39
Alte cercetări privind legile mendeliene ..... 43
Interpretarea matematică a legilor mendeliene ..... 44
Variația heterozigoției în diferite generații ..... 47

Cap. III. **Alte tipuri de segregare** ..... 49
Interacțiunea genelor și epistazia ..... 51
Polialelie, pseudoalelie și pleiotropie ..... 58
Fenomenul de poligenie (polimerie) ..... 64
Gene letale și subletale ..... 68

Cap. IV. **Bazele celulare ale eredității** ..... 71
Celula și ereditatea ..... 71
membrana celulară ..... 73
citoplasma ..... 75
constituenții citoplasmatici ..... 76
nucleul ..... 79

Diviziunea celulară ..... 81
numărul, forma și structura cromozomilor ..... 82
mitoza ..... 86
meioza ..... 91
fecundația ..... 94
partenogeneza și apogamia ..... 97
înmulțirea asexuată sau vegetativă ..... 98

Ciclul de viață al organismelor ..... 99
Ciclul de viață al plantelor și animalelor superioare ..... 99
Neurospora crassa și Bombardia lunata ..... 101
Bacteriile ..... 103


Scanned with OKEN Scanner

Conjugarea genetică ..... 105
Transducția genetică ..... 108
Virusurile ..... 111
Recombinarea genetică la virusuri ..... 113
Bazele celulare ale segregării ..... 115

Cap. V. **Mecanismul cromozomial al eredității** ..... 118
Cromozomii și ereditatea ..... 118
Teoria cromozomială a eredității ..... 120
Gene, loci și cromozomi ..... 121
Fenomenul de înlănțuire a genelor plasate în același cromozom (linkage) ..... 124
Recombinarea genelor între cromozomii pereche (crossing-over) ..... 128
Crossing-overul la *Drosophila melanogaster* ..... 128
Crossing-overul la *Neurospora crassa* ..... 130
Crossing-overul somatic ..... 130
Mecanismul citologic al crossing-overului ..... 133
Absența crossing-overului la unele sexe ..... 137
Plasarea liniară a genelor în cromozomi ..... 138
Hărți cromozomiale ..... 144
Aberații cromozomiale ..... 148

Cap. VI. **Ereditatea sexelor** ..... 155
Scurt istoric ..... 155
Determinismul genetic al sexelor ..... 156
Determinismul sexelor la plantele superioare ..... 158
Determinismul sexelor la microorganisme ..... 160
Raportul cromozomial X/A și X/Y în determinismul genetic al sexelor ..... 162
Determinismul citoplasmatic și nucleo-citoplasmatic al sexelor ..... 166
Hormonii și ereditatea sexelor ..... 167
Mediul și determinismul sexual ..... 169
Caractere legate de sex (sex linkage) și limitate la un sex (sex limited) .... 172

Cap. VII. **Ereditatea necromozomială** ..... 179
Ereditatea tipului de plastide la plante ..... 179
Influența maternă la hibridarea reciprocă ..... 181
Fenomenul merogoniei ..... 187
Androsterilitatea citoplasmatică și nucleo-citoplasmatică ..... 188
Hibridarea vegetativă ..... 192
Gene necromozomiale la organismele inferioare ..... 195
Mecanismul eredității necromozomiale ..... 198

Cap. VIII. **Consangvinizarea, încrucișarea și heterozisul** ..... 203
Consangvinizarea ..... 203
Hibridarea sexuată ..... 207
Scurt istoric ..... 207
Metode de hibridare sexuată ..... 215
Heterozisul ..... 218
Mecanismul genetic al heterozisului ..... 222
Bazele biochimice și fiziologice ale heterozisului ..... 226
Diferite tipuri de păstrare a heterozisului ..... 228
Heterozisul permanent la *Oenothera* ..... 228
Heterozisul la organismele ce se reproduc asexuat, partenogenetic și apogamic ..... 229
Autosterilitatea genetică și heterozisul ..... 230
Heterozisul la triploizi ..... 231
Amfiploidia, un tip constant de heterozis ..... 231
Ereditatea caracterelor cantitative ..... 232
Fenomenul heterozis și implicațiile sale practice ..... 234

Scanned with OKEN Scanner

Cap. IX. **Hibridarea interspecifică** ..... 241
Primele cercetări de hibridare interspecifică ..... 241
Fertilitatea și sterilitatea la hibrizii interspecifici ..... 247
Amfiploidia ..... 249
Noțiuni de citogenetica hibrizilor interspecifici ..... 255
Inducerea de translocații la hibrizii interspecifici ..... 260
Adiția și substituția de cromozomi de la o altă specie ..... 261
Implicațiile practice ale hibridării interspecifice ..... 264
Cap. X. **Mutații** ..... 269
Noțiuni generale privind mutațiile ..... 269
Mutații naturale ..... 270
Mutații artificiale și factori mutageni ..... 276
Metode de identificare a mutațiilor ..... 279
Identificarea mutațiilor recesive legate de cromozomii sexului ..... 279
Metoda legării cromozomilor X ..... 280
Metoda Cl B ..... 281
Metoda Muller-5 ..... 282
Identificarea mutațiilor recesive legate de autozomi ..... 282
Metoda genelor letale balansate ..... 284
Determinarea mutațiilor endospermului ..... 285
Determinarea mutațiilor la polen ..... 286
Determinarea frecvenței mutațiilor la mamifere ..... 286
Identificarea mutațiilor la microorganisme ..... 287
Metoda chemostatului ..... 288
Metoda fluctuației ..... 290
Metoda dispersiei ..... 292
Metoda replicii ..... 293
Metode de izolare a mutațiilor auxotrofe ..... 294
Cap. XI. **Poliploidia și pseudopoliploidia** ..... 299
Noțiuni generale. Scurt istoric ..... 299
Autopoliploidia ..... 304
Metode de inducere artificială a autopoliploidiei ..... 305
Meioza și fertilitatea la autotetraploizi ..... 311
Meioza și fertilitatea la triploizi ..... 316
Importanța practică a autopoliploizilor ..... 317
Pseudopoliploidia ..... 322
Cap. XII. **Aneuploidia, endoploidia, monoploidia și cromozomii-B** ..... 325
Aneuploidia și pseudoaneuploidia ..... 325
Trisomia și tetrasomia ..... 328
Monosomia și nulisomia ..... 331
Pseudoaneuploidia ..... 333
Endoploidia ..... 335
Monoploidia ..... 336
Cromozomii — B ..... 338
Cap. XIII. **Radiațiile și ereditatea** ..... 341
Primele cercetări de radiogenetică ..... 341
Radiații mutagene ionizante și neionizante ..... 343
Efectele biologice ale radiațiilor ..... 348
Biochimia efectului radiobiologic ..... 352
Radiațiile și acizii nucleici ..... 353
Radiațiile și celula vie ..... 356
Factorii care influențează efectul genetic al iradierii ..... 360
Folosirea radiațiilor mutagene în practică ..... 363
Perspective și limite în radiogenetică ..... 373
Cap. XIV. **Bazele biochimice ale eredității** ..... 374
Transformarea genetică ..... 375


Scanned with OKEN Scanner

A D N agent transformator al eredității ..... 376
A R N viral, purtător al informației genetice ..... 381
Noțiuni de biochimia acizilor nucleici ..... 382
Structura chimică a macromoleculei de A D N ..... 390
Structura chimică a A R N ..... 396
Sinteza A D N „in vivo" și „in vitro" ..... 401
Sinteza naturală și artificială a ARN ..... 411
Metode de studiu a acizilor nucleici ..... 417

**Cap. XV. Codificarea biochimică și reglajul genetic** ..... 421

Proteinele și biosinteza lor celulară ..... 421
Structura unor proteine ..... 423
Acizii nucleici și etapele biosintezei proteice ..... 427
Viteza și locul de biosinteză proteică ..... 432
Biosinteza „in vitro" a proteinelor ..... 434
Transcripția și translația informației genetice ..... 436
Funcționarea genelor cromozomiale ..... 439
Codul genetic ..... 441
Reglajul genetic ..... 448
Inducția enzimatică ..... 448
Represia și retroinhibiția enzimatică ..... 449
Gene structurale și gene reglatoare ..... 452
Operator și operon ..... 453
Acizii nucleici și memoria ..... 456

**Cap. XVI. Mecanismul molecular al mutației** ..... 458

Ipoteza lui Watson-Crick ..... 458
Ipoteza „erorilor" de includere și de replicație ale A D N și A R N ..... 461
Radiațiile mutagene și mecanismul lor molecular ..... 465
Factorii mutageni chimici care blochează biosinteza acizilor nucleici ..... 465
Analogii bazelor azotate și mecanismul lor mutagen ..... 467
Agenții alkilanți ca factori mutageni ..... 472
Alți factori mutageni chimici și modul lor de acțiune asupra acizilor nucleici 478
Specificitatea de acțiune a factorilor mutageni ..... 482
Procesul mutațional și codul genetic ..... 484

**Cap. XVII. Genetica și evoluția** ..... 489

Genetica populațiilor ..... 490
Legea Hardy-Weinberg ..... 490
Frecvența genelor în cazul grupelor de sînge uman ..... 494
Frecvența genelor la sexe diferite ..... 497
Frecvența genelor în cazul polialeliei ..... 498
Factori care modifică frecvența genelor într-o populație ..... 500
Poliploidia, aneuploidia și evoluția ..... 504
Rolul amfiploidiei în evoluție ..... 513
Originea și evoluția biochimică a materiei vii ..... 517

**Cap. XVIII. Probleme de genetică umană** ..... 523

Scurt istoric ..... 523
Omul ca obiect de studiu al geneticii ..... 525
Studiul genealogic al descendenței ..... 525
Studiul gemenilor monozigoți ..... 531
Studiul familiilor consangvine ..... 533
Cariotipul uman ..... 533
Maladii ereditare legate de cromozomii sexului ..... 535
Maladii cromozomiale ..... 540
Maladii metabolice ereditare ..... 545
Radiațiile mutagene și ereditatea umană ..... 550
Rasele umane din punct de vedere genetic ..... 554
Bibliografie ..... 557


Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL I

# GENETICA, ȘTIINȚA EREDITĂȚII

## DEFINIȚIE ȘI OBIECT DE STUDIU

*Genetica* poate fi definită ca *știința care se ocupă cu studiul mecanismului de înregistrare, conservare și transmitere a informației ereditare a organismelor de-a lungul generațiilor, precum și a mecanismelor de modificare a informației ereditare prin recombinare genetică, mutații etc.* Din această definiție reiese că fenomenul eredității are două laturi contradictorii, și anume : *conservatismul ereditar* prin care descendenții tind să se dezvolte asemănător cu ascendenții și *variabilitatea* eredității prin care descendenții pot prezenta nu numai asemănări, ci și deosebiri față de ascendenți.

De relativ multă vreme, oamenii au observat că plantele și animalele provin din organisme asemănătoare lor, fenomen exprimat foarte înțelept în dictonul popular „ce naște din pisică, șoareci mănîncă". În antichitate însă, și chiar în evul mediu, se considera că unele specii pot lua naștere pe o altă cale, și anume prin generație spontană din substanțe în descompunere. Celebrele experiențe ale lui R e d i (1626—1698), S p a l l a n z a n i (1729—1799), L o u i s P a s t e u r (1822—1895) etc. au demonstrat însă imposibilitatea generației spontane și că, chiar organismele inferioare provin din altele similare lor. S-a dovedit astfel că materia vie organizată sub formă de specii de plante, animale, microorganisme este capabilă de autoreproducere, proces prin care rezultă indivizi asemănători. Aceasta înseamnă că *materia vie nu poate exista fără atributul său, ereditatea.*

Într-o formulă lapidară, genetica poate fi definită ca fiind *știința eredității.* Denumirea de genetică provine de la cuvîntul grecesc *gennao* (γεννάω), care înseamnă a da naștere, denumire ce a fost atribuită acestei științe în anul 1906 de către savantul englez W. B a t e s o n la

cea de-a treia conferință internațională de hibridare și ameliorare a plantelor de la Londra, iar cuvîntul ereditate provine de la latinescul *hereditas*, ce înseamnă moștenire. Cu toate acestea, genetica a luat naștere ca știință mai înainte, și anume o dată cu descoperirea de către G. Mendel (1822—1884) a unor legi ale eredității în 1865, legi ce au rămas necunoscute pînă în anul 1900 cînd au fost redescoperite concomitent și independent de trei botaniști : Hugo de Vries în Olanda, C. Correns în Germania și E. Tschermack în Austria. În felul acesta hotarul dintre secolul al XIX-lea și al XX-lea marchează apariția geneticii, una dintre cele mai dinamice ramuri ale biologiei. Datînd ca știință de sine stătătoare de numai cîteva decenii, genetica a oferit cercetătorilor posibilitatea pătrunderii în intimitatea mecanismului și legilor unui fenomen care pînă de curînd părea atît de dificil de înțeles, și anume ereditatea ființelor vii.

## PRIMELE OBSERVAȚII ȘI CERCETĂRI ASUPRA EREDITĂȚII

Cu toate că genetica a apărut ca știință numai la începutul veacului nostru, primele observații și cercetări privind ereditatea sînt mult mai vechi. Astfel, trecerea omului la agricultură și la creșterea animalelor a însemnat un pas important înainte în dezvoltarea societății, creînd premise pentru ameliorarea plantelor și animalelor în conformitate cu dorințele și nevoile umane.

În antichitate, cu mai multe milenii înaintea erei noastre, oamenii au reușit să creeze soiuri de plante și rase de animale, fapte care demonstrează că în mod empiric ei observaseră modul cum se moștenesc la urmași caracterele și însușirile părinților. Într-adevăr cu peste 5 000 de ani î.e.n., în sculpturile egiptene sînt reprezentați ciini de diferite rase, iar pe o tablă de piatră veche de 6 000 de ani, descoperită în Chaldeea, este reprezentat pedigreul a 5 generații de cai cu indicații referitoare la modul cum se transmit la urmași forma capului și a copitei. Acum 6 000 de ani chinezii reușiseră, de asemenea, să creeze soiuri bune de orez, iar în urmă cu 4000 de ani în Babilon și Asiria în timpul regelui Hammurabi se făceau polenizări artificiale și încrucișări la palmieri, inflorescențele mascule de curmal fiind obiectul unui comerț de mare importanță.

În numeroase scrieri ale unor popoare vechi, ca egiptenii, chinezii, indienii, asirienii, medo-perșii, grecii, romanii etc., se găsesc indicații privind selecția la plante și animale, fapt care demonstrează că popoarele antice observaseră că este posibilă îmbunătățirea viețuitoarelor printr-o alegere cu grijă a semințelor și animalelor de reproducție și prin încrucișare.

La popoarele antice existau, de asemenea, unele observații privind ereditatea umană. Astfel, în mitologia hindusă se arată că unele calități omenești, ca forța, robustețea și înțelepciunea, sînt ereditare. Platon, cunoscut savant al Greciei antice, pornind de la ideea că anumite carac-

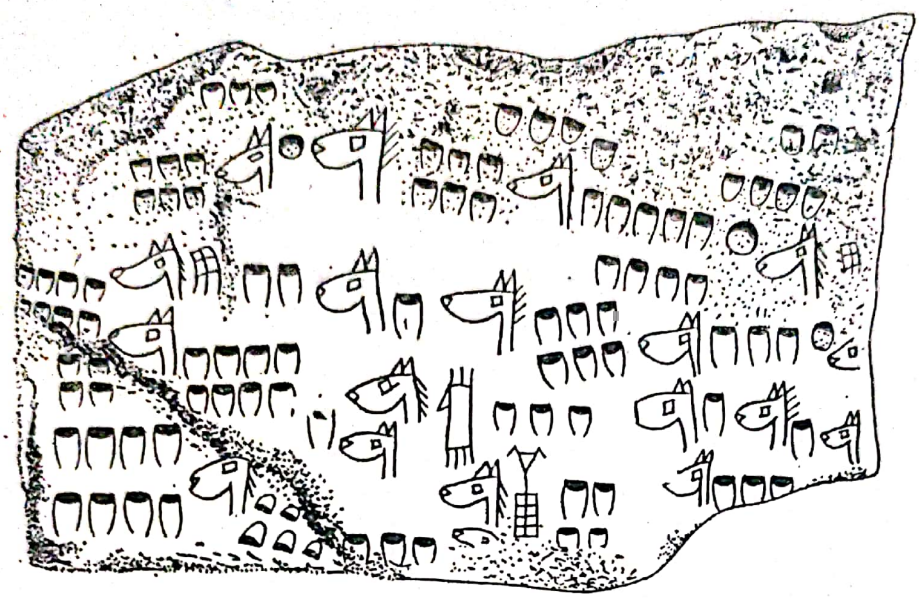


Fig. 1. Pedigreul a 5 generații de cai, reprezentat grafic pe o piatră veche de 6 000 de ani

tere și însușiri se transmit la urmași, recomanda reproducerea selectivă a oamenilor sănătoși, deștepți, curajoși, fiind inițiatorul eugeniei platonice ce se practica în cetatea Sparta și prin care se urmărea eliminarea din societate a indivizilor cu defecte fizice sau psihice. În sfîrșit, *medicii hipocratici* susțin pe bază de observații genealogice că anumite maladii și malformații umane sînt ereditare.

Extinderea creșterii raselor de animale și soiurilor de plante necesare societății antice în dezvoltare și intensificarea observațiilor asupra fenomenelor naturii a permis și efectuarea primelor speculații filozofice asupra naturii transmiterii caracterelor ereditare. În acest domeniu au excelat, dacă este posibilă o astfel de exprimare ținînd seama de nivelul redus al cunoștințelor din acea vreme, filozofii greci antici Empedocle, Anaxagora și Aristotel. Cu aproximativ cinci secole î.e.n., Empedocle afirma că fiecare părinte produce în diferite părți ale corpului „semințe" care se unesc și formează părți similare în embrion. El presupune în continuare că nu toate „semințele" ambilor părinți se transmit la copil, acesta întrunind unele caracteristici de la un părinte și altele de la celălalt, în timp ce unele caracteristici ale părinților apar împreună.

Anaxagora (500 — 428 î.e.n.), filozof contemporan cu Empedocle, considera că transmiterea ereditară a caracterelor la plante, animale și om se realizează cu ajutorul unor particule materiale. În acest fel, el este primul savant antic care încearcă să explice în mod materialist fenomenul transmiterii ereditare, elaborînd într-o formă embrionară teoria pangenezei care avea să fie dezvoltată ulterior de alți filozofi antici. Tot Anaxagora formulează și primele idei preformiste, conform cărora toate

Scanned with OKEN Scanner

organele unei plante sau unui animal se găsesc preformate în semințe sau în ouă. În antichitate, preformismul avea un caracter progresist, constituind o încercare de a explica materialist embriogeneza plantelor și animalelor, spre deosebire de preformismul evului mediu care, fiind pus în slujba intereselor bisericii ca argument pentru existența lui Dumnezeu, a căpătat astfel un caracter idealist.

Două sute de ani mai tîrziu, Aristotel considera că sîngele este elementul care transmite caracterele ereditare la urmași sub forma unui flux continuu ce trece de-a lungul generațiilor. Această părere a fost împărtășită multe secole de lumea științifică și ea mai dăinuie și astăzi printre neinițiați, constituind un așa-zis argument utilizat împotriva transfuziilor sanguine.

Teophrast elevul lui Aristotel, care se ocupă de problema ameliorării plantelor și animalelor în lucrările *Historia plantarum* și *De causis plantarum*, consideră că modificarea vieţuitoarelor se poate realiza prin intervenția omului, prin intervenția unor cauze naturale externe (căldura, frigul, seceta, ploile etc.) sau a unor fenomene interne din organism. În Grecia Antică trebuie citat și Atenoios, care face hibridări la animale (cal × asin, cîine × vulpe) și vorbește despre dominanța caracterelor materne.

În timpul înfloririi Imperiului Roman și o dată cu mutarea centrului cultural al antichității la Roma se ridică o serie de filozofi materialiști de origine latină, printre ei proeminînd figura filozofului latin *Lucreţiu* (99—55 i.e.n.). În opera sa principală *De rerum natura*, acesta se ocupă și de unele aspecte ale eredității, afirmînd că însușirile ereditare ar fi legate de niște particule materiale ce se pot păstra în corpul părinților și se transmit la urmași, determinînd apariția diferitelor trăsături. Constatînd că uneori descendenții nu sînt asemănători cu părinții, ci cu bunicii sau strămoșii mai îndepărtați, el susține că acest fenomen s-ar datora faptului că „adesea părinții păstrează în propriul lor corp o mulțime de primordii în amestec variat și ele se transmit prin ereditate din neam în neam, de la părinți la copii". În acest fel, el reia de fapt ideile filozofului grec Anaxagora.

Ceva mai tîrziu, în lucrarea sa capitală intitulată *De re rustica*, scriitorul roman Columela dădea, în secolul I e.n., indicații privind alegerea celor mai valoroase semințe în vederea cultivării, pentru ca recolta următoare să fie cît mai bună. În mod similar poetul roman Virgiliu se exprima în versuri în *Georgice*, cartea I, despre rolul selecției artificiale în moștenirea caracterelor la plantele de cultură:

„Vidi lecta diu et multo spectata labore
Degenerare tamen ni vis humana quotannis
Maxima quaeque manu legeret". *

* Am văzut că roadele culese prin multă și îndelungată trudă degenerează totuși dacă nu (intervine) voința omului în fiecare an să le culeagă cu mîna pe cele mai mari.

În felul acesta în antichitate nu numai că se dobîndiseră cunoștințe utile privind moștenirea caracterelor la descendenți și se creaseră soiuri și rase valoroase pe cale empirică, dar chiar s-au elaborat unele teorii și ipoteze privind mecanismul fenomenului ereditar.

Evul mediu nu a adus multe noutăți în concepțiile despre ereditate. Aceasta era considerată o proprietate de proveniență divină, ca de altfel întregul ansamblu de însușiri ale organismelor vii. „Savanții" scolastici, mistici și nepenetrabili la o cît de vagă idee progresistă, care ar fi contrazis dogmele socotite necriticabile, au frînat într-o măsură considerabilă dezvoltarea tuturor ramurilor științei, cu atît mai mult cu cît această tendință era alimentată și întreținută de ideologia feudală și de biserica retrogradă.

Dintre concepțiile cu o mai largă circulație în acea vreme reține atenția *teoria preformistă*, care atinge apogeul în secolul al XVII-lea prin susținătorii ei principali, A. V. Leeuwenhoek (1632—1723), Marcello Malpighi (1628—1694) și Gottfried Leibniz (1646—1716); acesta din urmă a încercat să-i dea și o fundamentare filozofică. În esență, preformiștii afirmau că în spermatozoid se găsește gata preformat embrionul, de dimensiuni foarte mici, iar în decursul vieții embrionare el nu face altceva decît să crească în dimensiuni. Alți biologi (Jan Swammerdam, 1637—1680) considerau că, dimpotrivă, embrionul se găsește preformat în ovulul matern. Asemenea teorii apărute în urma inventării microscopului și descoperirii elementelor sexuale, deși false, au avut meritul de a constitui o primă încercare, după secole de întunecime și stagnare, pentru găsirea unui substrat material al eredității, un prim pas, stîngaci și timid, spre realizările din ce în ce mai fructuoase din secolele următoare. Preformiștii, negînd dezvoltarea embrionară și susținînd ideea că embrionul apare gata format cu toate caracteristicile organismului adult, ajungeau în mod evident la concluzii fixiste cu caracter idealist. De altfel, teoria preformistă și-a găsit un adversar vajnic în persoana embriologului ger-

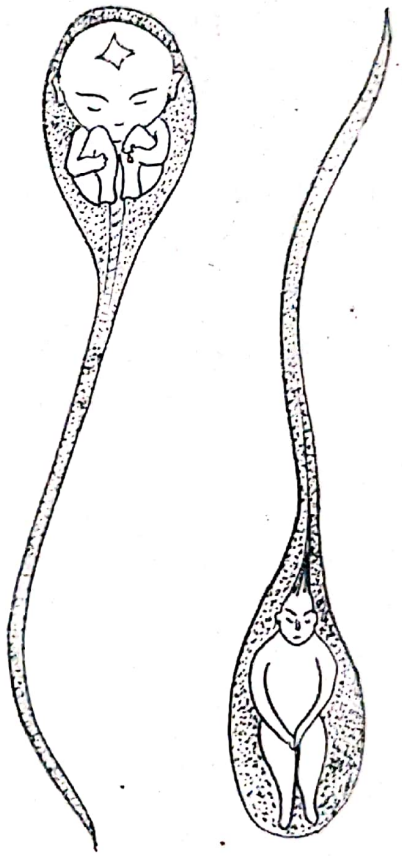


Fig. 2. Embrioni umani preformați în spermatozoizi după concepția lui *Hartsoeker* (1694) și *Dalempatius* (1699).



Scanned with OKEN Scanner

man K. F. Wolff (1733—1794), care aproape cu un secol mai tîrziu dovedește fără putință de tăgadă că celulele sexuale nu conțin embrioni preformați. Mai mult decît atît, el formulează *teoria epigenezei*, afirmînd că gameții ambelor sexe participă la formarea noului organism, în urma fecundării luînd naștere prin dezvoltare un organism nou.

Acumularea unui număr mare de date rezultate din practica secular a cultivării plantelor și creșterii animalelor, în vederea realizării unor organisme cu caractere și însușiri valoroase, mai bine adaptate la condițiile de mediu, a pregătit terenul primelor încercări conștiente de obținere dirijată a organismelor, prin încrucișări.

Pionier în acest domeniu este considerat savantul Josep Kölreuter (1733—1806), care a activat la Academia de științe din Petersburg. Efectuînd experiențe de încrucișare la aproximativ 50 de specii de plante, el reușește să obțină hibrizi (bastarzi), cea mai remarcabilă realizare a sa fiind hibridul dintre *Nicotiana paniculata* și *Nicotiana rustica*, ce prezenta caracterele intermediare ale celor doi părinți. Kölreuter este primul care atrage atenția asupra faptului că unii hibrizi sînt mai viguroși, cresc mai repede și înfloresc mai devreme decît părinții.

Aceeași remarcă o face și botanistul englez Thomas Andrew Knight (1754—1838), în urma experiențelor sale de încrucișare între diverse soiuri de mazăre. El descrie pentru prima oară fenomenul dominanței caracterelor și remarcă efectul negativ al autofecundării îndelungate asupra vitalității plantelor.

Cam în aceeași perioadă, în Olanda, activează Karl Friedrich Gärtner (1772—1850), care se ocupă, de asemenea, de problema hibridării plantelor, sintetizînd în lucrarea sa *Hibridarea plantelor în scop practic* majoritatea cunoștințelor din acea vreme asupra hibridării. Pentru această lucrare Gärtner primește, în 1837, premiul Academiei de științe din Olanda.

Spre sfîrșitul secolului al XVIII-lea, dar mai ales în secolul al XIX-lea, ascensiunea rapidă a capitalismului, concretizată prin dezvoltarea industriei și a orașelor, ridică tot mai mult problema producerii unor cantități sporite de materii prime necesare industriei și comerțului și a produselor alimentare în stare să satisfacă necesitățile marilor aglomerări omenești. Asemenea imperative economice duc la dezvoltarea agriculturii, care devine o ramură rentabilă a producției capitaliste. Ea se dezvoltă extensiv, prin cultivarea unor suprafețe tot mai mari cu plante alimentare, industriale și furajere, și intensiv, prin producerea de soiuri mai productive de plante și rase mai bune de animale domestice, prin mecanizarea lucrărilor agricole etc. Hibridarea și selecția folosită ca metodă de ameliorare a plantelor și animalelor în vederea creării unor noi soiuri și rase se practică pe scară largă îndeosebi în Anglia. Astfel, fermierul englez Charles Kollings (1750—1836) obține prin încrucișarea vitelor cu coarne scurte din valea rîului Trent cu cele originare din lunca Tisei, și prin selecția metișilor, renumita rasă de vite cornute *Shorthorn*, care se crește și astăzi în Anglia și în diferite alte țări, iar selecționatorul Hallet produce un soi

nou de grîu cu un conținut sporit de boabe în spic (123 față de 30—40 boabe la grîul obișnuit), denumindu-l *Squarehead*. Arta ameliorării soiurilor și raselor pe calea selecției atinge în Anglia o asemenea perfecțiune, încît selecționatorii reușeau să obțină în numai cîteva generații plante și animale corespunzătoare celor mai capricioase cerințe ale burgheziei.

Nu rămîn mai prejos nici selecționatorii francezi, dintre care se distinge în mod deosebit Louis Vilmorin (1816—1860), prin soiurile de sfeclă de zahăr cu un procent ridicat de zahăr în rădăcini, pe care le creează, ceea ce duce la revoluționarea industriei franceze a zahărului. Louis Vilmorin dă publicității o lucrare consacrată principiilor selecției artificiale (1856) și pune bazele unei largi acțiuni de selecționare a soiurilor de soia. Fiul său Henri Vilmorin îi continuă opera, astfel încît de numele familiei Vilmorin este legată dezvoltarea selecției la plante în Franța.

Un alt celebru selecționator francez, Augustin Sageret (1763—1851), creează numeroase soiuri hibride de pomi și arbuști fructiferi și descrie pentru prima oară fenomenul segregării caracterelor, pe care Mendel avea să-l fundamenteze mai tîrziu din punct de vedere teoretic în cea de-a doua lege a sa.

În sfîrșit, tot în Franța și-a desfășurat activitatea și Charles Naudin (1815—1894), care a întreținut corespondență cu Darwin. Naudin a realizat un număr mare de hibrizi la specii, ca *Papaver, Mirabilis, Primula, Datura, Nicotiana, Petunia, Digitalis, Linaria* etc. Vastul material experimental utilizat i-a permis efectuarea unui număr mare de observații și sintetizarea unor concluzii generale, cum ar fi : uniformitatea hibrizilor în prima generație, variația dezordonată (ceea ce Mendel avea să numească segregare) în generația a doua, apariția unor caractere pure ale părinților la hibrizi etc.

Ținînd seama de perioada istorică a înfloririi realizărilor acestor practicieni, fără de care nu se putea fundamenta din punct de vedere teoretic o concepție materialistă viabilă și larg acceptabilă în biologie în general și domeniul eredității în special, este explicabil de ce prima teorie evoluționistă în biologie elaborată de J. B. Lamarck (1744—1829) nu s-a putut afirma. În momentul apariției lucrării sale principale *Philosophie zoologique* (1809), acesta nu avea încă la îndemînă rezultatele unor asemenea experiențe ce-i puteau servi drept suport material incontestabil, așa cum i se va întîmpla cu jumătate de secol mai tîrziu lui Darwin. Insuccesul teoriei lui Lamark se datorește însă și altor cauze, atît de natură științifică cît mai ales social-politice.

Ceea ce nu a reușit Lamarck, realizează însă Charles Darwin (1809—1882). Sintetizînd propriile sale observații asupra naturii, culese în decursul expediției în jurul lumii la bordul vasului *Beagle*, cu cele desprinse din larga informație asupra realizărilor selecționatorilor și amelioratorilor de plante și animale, Darwin dă la iveală în 1859, o dată cu prima ediție a operei sale capitale *Originea speciilor*, teoria sa evoluționistă, care avea să-l facă celebru și care constituie fundamentul în-

Scanned with OKEN Scanner

tregii biologii moderne. Argumentînd cu probe de netăgăduit evoluția organismelor vii, Darwin produce prin teoria sa o profundă revoluție în gîndirea biologică, astfel că biologia devine o știință de sine stătătoare. Descoperirea legilor desfășurării procesului evolutiv natural în lumea vie a discreditat misticismul și religia în general, dîndu-le o lovitură zdrobitoare, după care ele nu s-au mai putut reface niciodată. Nu este locul aici să discutăm pe larg uriașa însemnătate a teoriei lui Darwin pentru dezvoltarea întregii biologii. Ne vom opri numai asupra concepției sale despre ereditate.

Darwin consideră că ereditatea este fenomenul asemănării descendenților cu părinții sau cu strămoșii mai mult sau mai puțin apropiați. Ținînd însă seama de faptul că între ascendenți și descendenți nu există niciodată o identitate absolută, întotdeauna manifestîndu-se unele deosebiri, el consideră că de fapt eredității nu-i este specific numai conservatismul, ci și variabilitatea. Referindu-se la problema transmiterii prin ereditate la descendenți a caracterelor și însușirilor dobîndite, Ch. Darwin consideră — la fel ca J. B. Lamarck — ca fiind just punctul de vedere al cultivatorilor de plante și crescătorilor de animale, după care „din ceva asemănător se naște tot ceva asemănător", scriind : „Poate punctul de vedere cel mai just de a privi această problemă ar fi să considerăm transmiterea ereditară a oricărui caracter drept regulă, iar netransmiterea ereditară drept anomalie". [1] Darwin formulează și cîteva legi referitoare la ereditate.

Simțind necesitatea unei explicații privind mecanismul transmiterii ereditare a caracterelor, el elaborează în 1868 *teoria pangenezei,* prin care afirmă că ereditatea este localizată în niște particule materiale infime, numite *gemule.* Acestea migrează din diferite părți ale corpului spre celulele sexuale, unde se acumulează și se transmit prin fecundare noului organism, determinîndu-i caracterele și însușirile. În cazul înmulțirii pe cale vegetativă, spune Darwin, caracterele se transmit tot cu ajutorul gemulelor răspîndite în tot organismul.

Această teorie pe care însuși autorul ei o consideră o „ipoteză temporară" nu constituie de fapt o idee nouă, ci este o reînnoire a concepției atomiste a lui Democrit. Ea conține un sîmbure just, pe de o parte, acela că fenomenul eredității este determinat de un anumit substrat material, și, pe de altă parte, că ereditatea are un caracter discontinuu, fiind reprezentată de anumite unități care mai tîrziu au primit denumirea de gene. Ținînd însă seama de faptul că teoria pangenezei nu avea o bază experimentală reală, gemulele fiind niște particule ipotetice, Darwin însuși renunță la ea, ca la o speculație neîntemeiată. Lipsită de corespondent faptic și conținînd o interpretare simplistă a unui fenomen biologic atît de complex ca ereditatea, această teorie trebuie considerată mecanicistă.

---

[1] Ch. Darwin, *Originea speciilor,* București, Editura Academiei R.P.R., 1957, p. 53.

Scanned with OKEN Scanner

Este explicabil de ce Darwin n-a putut rezolva problema eredității. Slaba dezvoltare a cunoștințelor de citologie, fiziologie, biochimie, biofizică etc., lipsa aproape completă a cunoștințelor cu privire la structura materiei vii și la mecanismele de desfășurare a proceselor metabolice intra- și extramusculare, lipsa totală a cercetărilor cu privire la baza materială a eredității nu i-au permis formularea unei teorii privitoare la mecanismul ereditar, realizată abia în zilele noastre.

## TEORIILE CORPUSCULARE ALE EREDITĂȚII

Deși repudiată de însuși creatorul ei, teoria pangenezei a găsit ecou la un număr de biologi ce s-au ocupat de studiul eredității și și-au publicat lucrările la sfîrșitul secolului al XIX-lea și începutul secolului al XX-lea. Ei au imaginat o serie de teorii denumite *teorii corpusculare ale eredității*, ce își au originea în teoria pangenezei a lui Darwin. Ele au fost numite teorii corpusculare întrucît localizează însușirea eredității în *corpusculi*, care, în funcție de autor, capătă diverse denumiri. Inspirate dintr-o teorie materialistă, dar mecanică și interpretată la liberul arbitru al autorilor lor, aceste teorii au, de asemenea, un caracter speculativ, multe dintre ele pierzînd și sîmburele materialist pozitiv prezent în teoria pangenezei.

Printre primii care elaborează o teorie corpusculară a eredității se numără cunoscutul zoolog german Ernest Haeckel (1834—1919), care pentru a explica mecanismul de transmitere ereditară a caracterelor formulează, în 1876, *teoria plastidulelor*. Acestea ar fi niște molecule complexe, înzestrate cu „memorie", cu ajutorul cărora se asigură reproducerea organismelor asemănătoare cu ascendenții. Plastidulele sînt înzestrate cu capacitatea de a se autoreproduce, și prin combinarea lor ia naștere protoplasma și chiar întreaga celulă. Proprietățile plastidulelor și modul cum ele se combină în organism sînt determinate de mișcări specifice, care sînt continuu modificate sub acțiunea factorilor externi. Teoria lui E. Haeckel are, ca și teoria darwinistă a pangenezei, un caracter mecanicist, fapt pentru care a fost respinsă de știința biologică o dată cu toate celelalte teorii corpusculare ale eredității. De altfel, însuși E. Haeckel și-a dat mai tîrziu seama de caracterul eronat și artificial al teoriilor de acest gen și a renunțat la ea.

O altă teorie corpusculară a eredității a fost elaborată de botanistul german Karl Wilhelm Nägeli (1817—1891). Acesta a formulat, în 1884, *teoria micelară a eredității*, conform căreia organismul viu este alcătuit din două părți distincte: *idioplasma* sau plasma ereditară și *trofoplasma* sau plasma nutritivă. Idioplasma ar fi alcătuită, după Nägeli, din anumite particule cu capacitate de autoreproducere, numite *micele*, care se grupează și se orientează într-un anumit mod în *cordoane micelare*, împînzind întreg corpul viu. Aceste micele ar avea proprietatea

de a transmite însușirile ereditare, modul de grupare a micelelor în interiorul cordonului, determinînd caracterele organismului. În schimb trofoplasma nu este înzestrată cu ereditate și are un simplu rol trofic pentru idioplasmă și micelele respective.

Prin faptul că prin teoria micelară Nägeli împarte în mod arbitrar corpul în două părți distincte calitativ, cvasiindependente, aceasta are o esență metafizică. În plus, ea suferă de defectul, propriu de altfel și altor teorii corpusculare, și anume negarea rolului mediului și al selecției naturale în evoluție, ceea ce-i conferă un caracter antidarwinist. După părerea lui Nägeli, idioplasma posedă o tendință proprie spre perfecționare și cuprinde în potențial caracterele tuturor generațiilor cărora le va da naștere. La această ultimă idee găsim ceva din izul preformismului secolelor anterioare, ceea ce accentuează și mai mult caracterul autogenetic și metafizic al teoriei micelare. Existența micelelor, rol al imaginației fanteziste a „creatorului" lor, nu a putut fi, de bună seamă, dovedită.

Cam în aceeași perioadă (1889) botanistul Hugo de Vries (1848—1935) formulează o altă teorie corpusculară pe care o intitulează *teoria pangenelor* pentru a sublinia înrudirea ei cu teoria pangenezei a lui Darwin. Spre deosebire însă de gemulele lui Darwin, *pangenele* lui Hugo de Vries nu ar fi mobile în organism, ci ar fi localizate exclusiv în nucleu, ele cuprinzînd atît caracterele manifeste ale organismului cît și pe cele latente. Din nucleu pangenele pot trece în citoplasmă, imprimînd acesteia diverse caractere. Nucleul celulelor sexuale ar conține în pangenele lui nu numai toate caracterele părinților, dar și cele ale descendenților. După Hugo de Vries, variabilitatea individuală este determinată de gradul de înmulțire al diferitelor tipuri de pangene în citoplasmă, în timp ce evoluția se datorește capacității pangenelor de a se divide în două pangene inegale. Deoarece teoria pangenelor neagă complet influența mediului asupra acestor corpusculi și susține că evoluția se datorește exclusiv unor factori interni, ea are un caracter autogenetic, suferind și de neajunsurile tuturor celorlalte teorii corpusculare.

Doisprezece ani mai tîrziu, Hugo de Vries bazat pe teoria pangenelor, explică evoluția viețuitoarelor cu ajutorul *teoriei mutaționiste* (de care însă ne ocupăm pe larg în capitolul privind mutațiile).

Teoriile corpusculare ale eredității culminează prin *teoria plasmei germinative,* imaginată de zoologul August Weismann (1834—1915), formulată în prima ei formă între 1875 și 1876 și definitivată abia în anul 1902. Împrumutînd de la Nägeli ideea împărțirii corpului în două părți distincte, Weismann susține că organismele vii sînt constituite din *germen* sau *plasmă germinativă,* pe de o parte, și *somă* sau *corp,* pe de altă parte. El a ajuns la această concluzie pornind de la cercetarea unor organisme unicelulare (protozoarele) ale căror caractere și însușiri se păstrează la descendenți datorită continuității celulare, adică fracționării fiecărei celule-mamă în două celule-fiice asemănătoare cu ea. A. Weismann consideră că și la organismele pluricelulare se regăsește aceeași continuitate celulară de-a lungul generațiilor, presupunînd că aceasta este linia celulară particulară ce duce la formarea gameților.

Scanned with OKEN Scanner

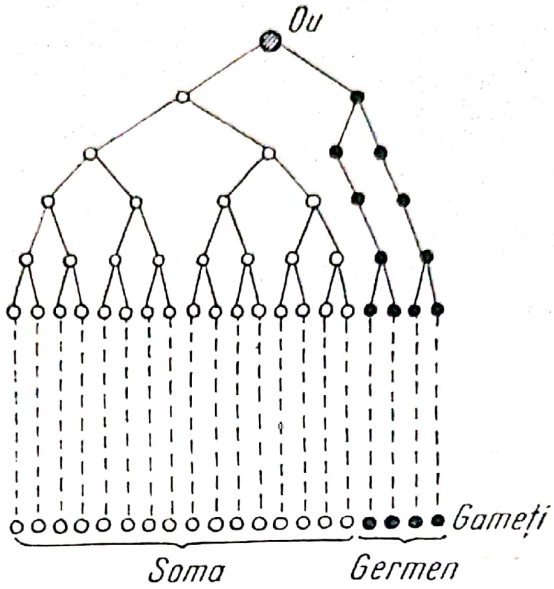



Fig. 3. Schema lui *A. Weismann* privind separarea somei de germen.

În continuare, Weismann consideră că atunci cînd zigotul sau oul începe să se dividă, linia germinală reprezentată de celulele sexuale se izolează de cea somatică din care se formează toate celelalte celule și organe ale individului. Mergînd pe linia aceluiași raționament, Weismann afirmă că descendenții seamănă cu ascendenții datorită faptului că și unii și alții sînt produși de aceeași linie germinală, ale cărei proprietăți rămîn imuabile. El afirmă că germenul nemuritor nu este influențat de somă și nici de condițiile de mediu, ce pot influența numai soma. El ajunge la această concluzie pe baza unor experiențe, în care a tăiat coada la 22 de generații succesive de șoareci, fără să obțină transmiterea ereditară a acestui caracter, descendenții avînd toți coada de dimensiuni normale.

Germenul sau plasma germinativă a organismului are o structură discontinuă, fiecare parte a organismului (fiecare organ sau chiar fiecare celulă somatică) fiind reprezentată în germen printr-o particulă discretă, denumită de A. Weismann *determinant*. De fapt, unitatea ereditară cea mai mică este *bioforul*, alcătuit prin asocierea unui număr mare de molecule chimice. Bioforii sînt localizați în nucleu, de unde ei ies prin niște pori speciali și, ajungînd în citoplasmă, determină dezvoltarea diferitelor caractere ale celulei respective. Prin asocierea bioforilor dintr-o aceeași celulă se obține un determinant, care are capacitatea de a se divide, dînd naștere astfel la toți determinanții liniei celulare respective. În fiecare celulă somatică se află un singur tip de determinant și numai în celulele sexuale se află reuniți determinanții întregului organism. Între determinanți nu există nici un fel de relații și de aceea caracterele pe care ei le controlează pot varia independent unele de altele.

În nucleul celulelor, determinanții sînt grupați în unități ereditare mai mari, denumite *ide*, care, la rîndul lor, sînt grupate într-o *idantă*,

ce sînt însiși cromozomii. În urma fecundării are loc un proces de împerechere a determinanților omologi, dar nu identici, proveniți din germenul celor doi genitori. În zigot are loc o luptă, o concurență, între determinanții materni și paterni aflați sub formă de pereche, care duce la predominarea unuia dintre ei asupra omologului său. În felul acesta, dominanța caracterelor s-ar explica prin așa-numita *selecție germinală*.

O altă teorie susținută de A. Weismann este aceea că numai corpul sau soma sînt muritoare, în timp ce plasma germinativă este nemuritoare. În 1902 el publică lucrarea *Vorträge über Deszendenztheorie*, în care — în capitolul intitulat „Continuitatea plasmei germinative" — scria :

„De asemenea, nu este just, în adevăratul înțeles al cuvîntului, de a afirma — așa cum am făcut-o pînă acum — că celulele germinative sînt nemuritoare : ele numai adăpostesc partea nemuritoare a organismului, plasma germinativă..."

Ideea continuității și nemuririi plasmei germinative l-a făcut pe A. Weismann să compare germenul cu rizomul plantelor multianuale, din care apar treptat indivizi izolați. „Plasma germinativă poate fi reprezentată — scria A. Weismann — ca un rizom alungit, din care se ridică, din distanță în distanță, mici plante izolate, care sînt indivizii generațiilor succesive".

Constituind apogeul teoriilor corpusculare ale eredității teoria weismannistă suferă de toate neajunsurile acestora. Teza de la care pornește, și anume că protozoarele sînt nemuritoare, este greșită, deoarece diviziunea unui organism unicelular înseamnă de fapt dispariția individului, iar atunci cînd nu se divide, orice ființă unicelulară moare ca oricare alta. Împărțirea arbitrară a corpului în două părți distincte este, de asemenea, mecanică și eronată, toate cercetările ulterioare dovedind, dimpotrivă, strînsa interdependență dintre componentele organismului, influența mediului asupra întregului organism, inclusiv celulele reproducătoare.

De asemenea, utilizarea noțiunii de selecție germinală de către Weismann este eronată, ea nefiind altceva decît reluarea unei idei metafizice a anatomistului W. Roux, constituind o încercare de extindere abuzivă a principiului selecției naturale acolo unde ea nu poate avea loc și anume în interiorul organismului.

Proclamînd nemurirea germenului și imposibilitatea influențării lui, Weismann îi atribuie acestuia proprietăți care-l situează deasupra caracterelor naturale ale materiei vii, lăsînd loc misticului, ceea ce este inacceptabil în știință.

Caracteristic pentru toate teoriile corpusculare amintite mai sus este așadar considerarea faptului că ereditatea este localizată în anumite particule ipotetice, independente de restul organismului, care se transmit neschimbate din generație în generație, schimbările ce pot interveni în ereditate fiind de origine autogenetică, datorită unor proprietăți intrinsece ale materialului ereditar și total independente față de condițiile de viață în care trăiește organismul.

Scanned with OKEN Scanner

Trebuie să arătăm aici că multă vreme teoriilor corpusculare ale eredității li s-a reproșat, pe lîngă caracterul metafizic, și faptul că au căutat o localizare a eredității în anumite particule, deși principial această tendință nu era greșită. Dezvoltarea ulterioară a geneticii, și mai ales descoperirile din ultimele două decenii ale secolului nostru, au dovedit că într-adevăr *ereditatea, ca orice altă însușire biologică, are un anumit suport material.* Greșelile susținătorilor teoriilor corpusculare constau însă în caracterul ipotetic al particulelor preconizate de ei și în interpretarea pe care o dădeau esenței acestor „corpusculi ereditari", considerați nemuritori, independenți de restul corpului și neinfluențați de mediul intern și extern al organismelor. Caracterul fals al interpretărilor adepților teoriilor corpusculare a determinat dezvoltarea unui întreg curent biologic, denumit *neodarwinism,* al cărui inițaitor a fost A. Weismann și care, ca și *neolamarckismul,* avea un caracter unilateral.

*Neodarwinismul* este în esență o concepție autogenetică, concepție conform căreia variațiile ereditare și respectiv evoluția organismelor se datorește unor cauze exclusiv interne. De asemenea, se consideră că hazardul are un rol foarte important în evoluție, fapt real care este opus în ultima analiză finalismului, teleologiei. Cu toate acestea, curentul neodarwinist, exagerînd rolul hazardului și considerînd deci întîmplarea ca bază a evoluției, ajunge să nege faptul că întîmplarea constituie de fapt o formă de manifestare a necesității variațiilor ereditare sub influența unor cauze externe și interne.

Opus acestui curent, *neolamarckismul* este o concepție ectogenetică conform căreia întreaga cauzalitate biologică este redusă la ideea că în special factorii fizici ai mediului ca temperatura, umiditatea, lumina etc. constituie sursa variațiilor ereditare. Ca urmare se consideră că materia vie constituie un factor pasiv al evoluției, iar mediul un factor activ. Desigur că o astfel de concepție unilateralizează la rîndul ei procesul evolutiv, neținînd seama de factorii interni, de substratul material al eredității.

O contribuție însemnată la lămurirea mult discutatei probleme a *interrelației ereditate-mediu* au adus-o biologi experimentatori cunoscuți, ca L. Burbanck (1849—1926), K. A. Timiriazev (1843—1920), I. V. Miciurin (1855—1935) etc.

Cercetările moderne de genetică au demonstrat că mutațiile sînt determinate atît de factori externi cît și de genotipul organismelor. Aceasta înseamnă că evoluția este determinată de interacțiunea eredității cu mediul. În felul acesta, diferitele teorii privind ereditatea, atît neodarwiniste cît și neolamarckiste, apărute în secolul al XIX-lea și la începutul secolului al XX-lea n-au reușit să dea o bază satisfăcătoare studiului eredității, cu atît mai mult cu cît aceste teorii aveau în bună măsură un caracter ipotetic-speculativ și mai puțin experimental. Dezvoltarea cercetărilor experimentale privind ereditatea de la sfîrșitul seco-

lului al XIX-lea, dar mai ales în secolul al XX-lea, efectuate nu numai la nivelul individului, dar în special la nivel celular și mai tîrziu molecular, au determinat apariția și consolidarea unei științe biologice noi, care se cheamă *genetică*.

## APARIȚIA ȘI DEZVOLTAREA GENETICII.

În anul 1865 adică acum mai bine de un secol, naturalistul și matematicianul ceh Gregor Mendel a publicat în limba germană rezultatele cercetărilor sale privind hibridarea la plante. Momentul apariției lucrării *Versuche über Pflanzenhybriden* constituie o dată memorabilă în istoria biologiei, marcînd începuturile geneticii, știința eredității. G. Mendel a început cunoscutele sale experiențe de încrucișare la mazăre în anul 1857 și le-a terminat 8 ani mai tîrziu, pe baza lor elaborînd două legi privind transmiterea caracterelor la descendenți. Cu o capacitate uimitoare de previziune științifică, el a imaginat existența în celulele sexuale ale viețuitoarelor a unor particule materiale, denumite de el *factori ereditari*, prin a căror combinare în procesul fecundării pe bază de hazard se obține diversitatea de tipuri de organisme hibride. Avînd o pregătire matematică remarcabilă, G. Mendel a fost primul naturalist care a aplicat cu succes teoria probabilității, pentru a explica fenomenele de dominanță și segregare a caracterelor ereditare la hibrizi.

Opera lui G. Mendel, avînd bineînțeles și unele limite datorită epocii în care a fost elaborată, a reușit totuși să străbată timpul, astfel că în prezent *Mendel este considerat unul dintre fondatorii geneticii ca știință*. Cu ocazia centenarului operei lui G. Mendel, s-a organizat în 1965 un *Simpozion internațional memorial la Brno*, acolo unde a lucrat Mendel, urmat de un *Simpozion internațional privind procesul mutațional la Praga*. Cele două simpozioane s-au bucurat de o largă participare internațională : peste 800 oameni de știință din 40 de țări și peste 260 referate și comunicări științifice în care s-a analizat dezvoltarea actuală a geneticii și s-au comunicat rezultate interesante privind studiul eredității.

Cu toate că cercetările lui G. Mendel au fost publicate într-o revistă de mare circulație, totuși ele au rămas necunoscute pînă la hotarul dintre secolul al XIX-lea și al XX-lea, cînd au fost redescoperite, fapt care marchează cu adevărat *apariția geneticii ca știință*.

În primii ani ai secolului al XX-lea W. Bateson descoperă faptul că legile mendeliene au valabilitate și în lumea animală, iar în 1906 tot el este acela care denumește noua știință biologică ce se ocupă cu studiul eredității — *genetica*. Ulterior, W. Johansenn creează noțiunile de *genotip*, prin care înțelege baza ereditară a organismelor, care cuprinde totalitatea factorilor ereditari *(gene)* și *fenotip* prin care este desemnată totalitatea caracterelor și însușirilor organis-

Scanned with OKEN Scanner

melor. De asemenea, el introduce în știință noțiunea de *genă* în 1909, pe care o definește astfel : „Cuvîntul genă este cu totul străin de orice implicație ipotetică. El exprimă doar faptul că proprietățile organismului sînt condiționate prin „stări", „factori", „unități" sau „elemente" speciale, în orice caz parțial segregabile și astfel într-o oarecare măsură independente, din constituția gameților și zigoților, pe scurt tocmai prin ceea ce vrem să numim genă". *

Multă vreme gena a fost considerată sub un triplu aspect, și anume ca *unitate funcțională, de recombinare și de mutație.* Cercetările mai noi au demonstrat însă că există și alte unități genetice mai mici decît gena, astfel că în prezent se poate vorbi de *cistroni, reconi* și *mutoni.* În concepția actuală, *gena poate fi definită ca unitatea de informație genetică care conține mesajul necesar biosintezei unui lanț polipeptidic sau unei alte biomolecule complexe.*

În cele aproape 7 decenii care au trecut de la apariția geneticii, cercetările privind ereditatea au luat un mare avînt și au dus la descoperiri și realizări remarcabile. Aceasta, datorită îndeosebi folosirii în cercetările de genetică a metodelor de studiu și a realizărilor unor științe conexe, ca : citologia, biochimia, biofizica, radiobiologia, bacteriologia, virusologia, matematica și cibernetica etc. S-a reușit astfel să se realizeze progrese considerabile în aprofundarea cunoștințelor despre ereditate, nu numai la nivelul individului, ci și la nivel celular, subcelular și molecular.

La sfîrșitul secolului al XIX-lea și începutul secolului al XX-lea toate cercetările experimentale confirmau supozițiile referitoare la existența în organismele vii a unui suport material al eredității. De aceea orientarea principală a cercetărilor s-a făcut spre descoperirea factorilor ereditari materiali din celule și a mecanismului prin care se realizează transmiterea caracterelor la descendenți, adică în ultimă analiză capacitatea de autoreproducere a materiei vii. În această perioadă se dezvoltă rapid o altă ramură a biologiei, și anume *citologia,* a cărei preocupare principală o constituie studiul structurii și funcției componentelor de bază ale celulei. Pe acest tărîm s-au întîlnit preocupările citologilor cu cele ale geneticienilor angajați în descoperirea componentelor celulare responsabile cu transmiterea ereditară a caracterelor de-a lungul generațiilor.

În primele decenii ale secolului al XX-lea se încep cercetări sistematice asupra mecanismului ereditar la nivelul celulelor vegetale și animale, care au pornit de la observația că între diviziunea celulară la cele mai difertie specii de plante și animale, există o mare asemănare. Pe această bază s-a ajuns la concluzia că în nuclei și respectiv în cromozomii care se divid și se împart atît de egal în celule-fiice trebuie căutată cheia transmiterii particularităților ereditare. În anul 1902 biologul american W. S. Sutton și citologul german T. Boveri au emis

* W. Johansen, *„Elemente der Exakten Erblichkeitslehre"*, ed. a 2-a, G. Fischer Verlag, Jena, 1913, p. 143—144.

independent ideea că în cromozomi se află factorii ereditari ce determină dezvoltarea caracterelor și însușirilor organismelor. Ideea aceasta a fost preluată și dezvoltată de geneticianul american T. Morgan și școala sa, care în primele două decenii ale secolului nostru a pus bazele geneticii clasice, elaborînd *teoria cromozomică a eredității*. A apărut astfel o știință nouă de contact, denumită *citogenetică*, ce urmărea să studieze ereditatea cu ajutorul metodelor citologice, iar T. Morgan, fondatorul citogeneticii, a fost distins cu Premiul Nobel. Premisa de la care s-a pornit a fost stabilirea unei corelații între fenomenul eredității și anumite structuri materiale celulare. Pentru prima oară s-a început studiul eredității cu ajutorul metodelor exacte ale citologiei, trecîndu-se de la ipoteze și speculații la cercetări experimentale.

Primele cercetări de citogenetică au fost axate în mod aproape exclusiv pe studiul nucleului și respectiv al cromozomilor în procesul de diviziune celulară, descoperindu-se fenomenele de linkage și crossing-over, aberațiile cromozomiale, rolul cromozomilor în determinarea sexului, localizarea genelor pe cromozomi în loci, cromozomii uriași din glandele salivare ale unor insecte etc. Pe această bază s-a trecut la punerea în concordanță a rezultatelor cercetărilor genetice cu cele citologice, prin întocmirea hărților cromozomiale, mai întîi la *Drosophila melanogaster* și *Zea mays*, iar apoi la alte specii. Aceste cercetări au contribuit atît la dezvoltarea geneticii cît și a citologiei.

Abundența datelor care probau rolul genetic al cromozomilor a acaparat o bună perioadă de timp mințile multor geneticieni în asemenea măsură încît citoplasma a fost, pe nedrept, complet neglijată. Acesta este și motivul pentru care de fapt citogenetica era reprezentată în mod exclusiv de studiile de *cariogenetică*, în sensul că cercetările se făceau exclusiv la nivelul nucleului. Cu toate acestea, încă de la începutul veacului nostru și-a făcut loc, timid și sporadic, ideea că citoplasma ar fi capabilă să exercite un oarecare rol în ereditate. Cu timpul s-a ajuns la descoperirea fenomenelor de *ereditate necromozomială*, adică a mecanismelor în care alte componente celulare decît cromozomii participă efectiv la transmiterea unor caractere.

Trebuie ținut însă seama că între mecanismul cromozomial de transmitere ereditară și cel necromozomial nu poate fi pus semnul egalității. Toate cercetările actuale converg spre ideea că mecanismul cromozomial este cel mai important și că el asigură o mare stabilitate genetică a organismelor superioare, autoreproducerea lor cu o înaltă fidelitate. Mecanismul cromozomial este însă completat cu unul necromozomial, situat la nivelul citoplasmei, care asigură transmiterea ereditară a unor caractere la organismele inferioare ce au o stabilitate genetică mai redusă și parțial chiar la cele superioare.

Pe lîngă saltul uriaș înainte pe care descoperirea radioactivității l-a imprimat dezvoltării chimiei, fizicii și tehnicii, ea a avut repercusiuni hotărîtoare și pentru dezvoltarea unor științe adiacente, ca biologia, agronomia și medicina. Genetica a fost printre primele ramuri biologice care a beneficiat din plin de noile metode de lucru elaborate de fizicieni.

Scanned with OKEN Scanner

Atenția cercetătorilor a fost imediat atrasă de problema efectului biologic al radiațiilor și o dată cu extinderea acestor studii s-a ajuns la descoperirea capacității radiațiilor ionizante de a produce modificări ereditare numite *mutații*. Asemenea studii au întreprins între 1905 și 1910 C. Stuart Gager și între 1920 și 1929 James T. Mavor, iar începînd din anul 1927 H. J. Muller care, de altfel, pentru studiile sale deosebit de interesante și pentru imaginarea metodelor ingenioase de depistare a mutațiilor induse de radiații a fost distins cu Premiul Nobel. Cercetările sale au constituit piatra fundamentală a unei importante ramuri a geneticii moderne, *radiogenetica,* disciplină de contact în care agenții fizici, cum sînt *radiațiile ionizante* și *neionizante,* sînt folosiți în studiul eredității.

Chimia a pus și ea la îndemîna geneticienilor arme noi în studiul eredității. Este vorba de utilizarea recentă (după anul 1946) a unei game largi de *substanțe chimice mutagene* (agenți alkilanți, acidul nitros, aldehida formică, hidroxilamina, analogi ai unor baze azotate, unii coloranți etc.), care se înscriu pe primul plan al luptei pentru descoperirea unor factori mutageni cît mai eficienți.

O modernă și importantă ramură a geneticii actuale utilizează ca metodă principală de lucru aparatul matematic, și anume *genetica populațiilor*. La baza transmiterii caracterelor în populații largi stau procese aparținînd unui tip special de determinism, numite stochastice. Ele își au originea în studii probabilistice, inițiate încă în anul 1908 de G. H. Hardy și W. Weinberg, și constituie un domeniu vast în care matematicienii participă activ la rezolvarea problemelor de genetică, mai ales a celor privind evoluția.

Dacă citogenetica a fertilizat studiul fenomenului ereditar la nivelul celulei, dezvoltarea considerabilă a biochimiei în ultimele decenii avea să-și spună cuvîntul hotărîtor în studiul fenomenului ereditar și în special în cercetarea substratului material al eredității. Ea a conferit citologiei noi tehnici de cercetare, cum sînt cele de citochimie și citofiziologie, care au pătruns cu repeziciune în laboratoarele de genetică, pregătind terenul succeselor contemporane. La acestea s-au adăugat noile investigații cu ajutorul microscopului electronic, rod al nivelului actual de dezvoltare a fizicii moderne, instrument care permite studiul structurilor subcelulare și moleculare. În sfîrșit, orientarea actuală a geneticii a fost favorizată de utilizarea ca obiect de studiu a microorganismelor (ciuperci, bacterii și virusuri), a căror organizație extrem de simplă și capacitate mare de înmulțire a permis aprofundarea cercetărilor privind substratul material al eredității. Este vorba de uriașul salt înainte făcut de genetică prin trecerea de la nivelul celular de studiu la cel molecular, adică a componentelor biochimice ale materiei vii. Rezultatul a fost apariția unei noi ramuri a geneticii, rod al ultimelor două decenii, și anume *genetica moleculară*. Însemnătatea considerabilă a descoperirilor efectuate în acest domeniu a ajuns să depășească însăși granițele geneticii, revoluționînd și alte ramuri biologice apropiate, ca bacteriologia, virusologia, fiziologia, microbiologia, biochimia etc. Genetica

moleculară a însemnat încă un pas înainte în bătălia care se dă pentru înțelegerea cît mai completă a fenomenului ereditar.

Printre cele mai importante realizări ale geneticii moleculare pot fi citate — în ordine cronologică — următoarele : descoperirea fenomenului de transformare genetică la bacterii cu ajutorul A.D.N. (O. T. Avery și colaboratorii, 1944), descoperirea modului de alcătuire a macromoleculei de A.D.N., fapt care a făcut posibilă dezvoltarea considerabilă a cercetărilor privind acizii nucleici (J. Watson, F. Crick și M. Wilkins, 1953), realizarea biosintezei artificiale a A.R.N. (M. Grunberg-Manago și S. Ochoa, 1955) și a A.D.N. (A. Kornberg, 1956), descoperirea faptului că A.R.N.-ul izolat de la virusul mozaicului tutunului este capabil singur să inducă viroza respectivă (N. Fraenkel-Conrat, R. Williams pe de o parte și A. Gierer, G. Schramm pe de alta, 1956), descifrarea codului genetic (S. Ochoa, 1963 și W. Nirenberg 1961, 1965), descoperirea reglajului genetic (S. Benzer, 1958 și F. Jacob, J. Monod, 1961) etc. Pentru aceste realizări, mulți dintre geneticienii citați mai sus au fost distinși cu Premiul Nobel.

Orientarea cu precădere a cercetărilor de genetică spre fenomene care se petrec la nivele biochimice de organizare ale vieții a ridicat probleme noi de biologie teoretică. Tocmai această orientare a creat unele confuzii, întrucît este cunoscut faptul că nici una dintre structurile macromoleculare ale vieții (proteine și acizi nucleici) nu posedă însușirea de a fi vii. Mai mult decît atît, nici măcar sistemul acid nucleic + proteină, component esențial al celor mai elementare ființe vii existente — virusurile — nu este viu în afara celulei-gazdă. Nu trebuie să uităm însă că nici componentele morfofuncționale celulare (cromozomii, mitocondrii, ribozomii etc.) luate fiecare în parte nu sînt vii. Aceasta, deoarece nu putem vorbi de viață la nivelul nici uneia din structurile moleculare sau celulare izolate. De o deosebită importanță este însă faptul că din interacțiunea unor asemenea structuri celulare și moleculare, din funcționarea și condiționarea lor reciprocă, rezultă fenomene specifice vieții. Această interacțiune are la bază nu numai relații strict biologice, ci include toate treptele inferioare celei biologice de mișcare a materiei, și anume : mecanică, fizică, chimică. O profundă cunoaștere a fenomenului ereditar care se desfășoară la nivelul treptei biologice de mișcare a materiei devine astfel imposibilă fără însușirea și înțelegerea fenomenelor de mecanică, fizică, chimie, biofizică, biochimie.

Încă în secolul trecut, F. Engels prevăzuse, pornind de la premisa că în natură între diferite fenomene și forme de micșare nu există o separare rigidă, ci ele sînt condiționate reciproc, că este necesar ca științele naturii să reflecte aceste legături reciproce. De aceea studiul naturii vii trebuie abordat cu ajutorul metodelor variate oferite de diferite ramuri ale științelor. Ca atare putem spune că ideea după care ereditatea trebuie studiată exclusiv prin metode biologice înseamnă unilateralitate în cercetare și nu poate contribui la adîncirea procesului cunoașterii, la dezvoltarea geneticii ca știință.

Scanned with OKEN Scanner

Ceea ce nu înțeleg încă unii biologi este faptul că genetica moleculară și în general biologia moleculară nu este și nu poate fi astăzi, cînd privim viul din punct de vedere dialectic, mecanicistă. Dimpotrivă, detectînd acțiunea unor relații matematice, unor legi fizice și chimice la nivelul structurilor viului, genetica moleculară este capabilă să explice interacțiunea materială multiplă dintre toate nivelele de organizare ale materiei : cuantică, atomică, moleculară, macromoleculară și subcelulară. La nici unul dintre aceste nivele nu apare fenomenul ereditar ca atare, el găsindu-și forma de expresie abia la *nivelul celulei.*

În cele expuse mai sus am căutat să demonstrăm necesitatea obiectivă a apariției unor *discipline de contact,* caracteristică a dezvoltării științei în etapa actuală, mergînd pe firul dezvoltării istorice a geneticii. S-a adeverit astfel previziunea lui F. Engels privind apariția unor științe „intermediare" sau „de contact", care prin îmbinarea diferitelor discipline separate ale științelor naturii pot duce la realizări remarcabile în dezvoltarea cunoașterii științifice. De asemenea, s-a dovedit faptul că interpătrunderea științelor stimulează extraordinar progresul științific. Această conexiune a diferitelor discipline științifice pune în fața cercetătorului modern și îndeosebi în fața geneticianului de azi cerința studierii și altor domenii științifice, îndeosebi a metodologiei științelor adiacente.

Fără a fi cu adevărat o știință de contact, genetica utilizează metodele de studiu ale fenomenelor dintr-o seamă de științe ale naturii : citologia, fizica și biofizica, chimia și biochimia, matematica și cibernetica. În schimb unele din ramurile contemporane ale geneticii, ca : *citogenetica, radiogenetica, genetica populațiilor* și *genetica moleculară* pot fi considerate pe drept cuvînt *științe de contact.*

Cu toate că istoria geneticii ca științță este relativ scurtă — mai puțin de 7 decenii — totuși dezvoltarea sa impetuoasă a creat necesitatea unei periodizări a evoluției sale. La cel *de-al XI-lea Congres internațional de genetică de la Haga din 1963,* geneticianul american M. Demerec a încercat să descifreze un număr de șase perioade în dezvoltarea geneticii, și anume :

*1.* — Redescoperirea legilor lui G. Mendel.
*2.* — Introducerea în cercetare a *Drosophilei melanogaster.*
*3.* — Descoperirea efectului mutagen al radiațiilor ionizante.
*4.* — Descoperirea corespondenței dintre benzile cromozomilor uriași din glandele salivare ale *Drosophilei* și plasarea genelor în locii cromozomilor.
*5.* — Introducerea microorganismelor în cercetările de genetică.
*6.* — Descoperirea structurii macromoleculei acidului dezoxiribonucleic (A. D. N.).

Desigur că o astfel de periodizare are un caracter relativ, deoarece și alte momente importante în evoluția geneticii ar putea fi luate în considerare, mai ales cele privind rolul genetic al acizilor nucleici, modul de codificare biochimică a informației ereditare, studiul reglajului genetic și al biosintezei artificiale a proteinelor etc.

Indicații interesante privind evoluția geneticii se pot obține din analiza celor 11 congrese internaționale care s-au ținut pînă acum. Astfel, primul congres s-a ținut la Londra, în 1899, sub denumirea de „Conferință internațională a hibridării", și la care s-au discutat probleme privind încrucișarea intra- și interspecifică, acordîndu-se premii pentru cele mai bune soiuri de plante și rase de animale create pe această cale. Cel de-al doilea congres s-a ținut la New-York în 1902 sub aceeași denumire, deoarece aceasta era perioada în care genetica nu se despărțise încă de ameliorarea plantelor și animalelor, avînd aproape exclusiv un caracter aplicat.

În 1906 cea de-a treia conferință a hibridării ia denumirea de congres internațional de genetică la propunerea lui W. Bateson. De acum înainte toate congresele internaționale în acest domeniu vor purta denumirea de congrese de genetică.

Cel de-al IV-lea congres internațional de genetică s-a ținut în 1911 la Paris, la invitația „Societății naționale de horticultură a Franței", președinte fiind A. Vilmorin. Din cauza primului război mondial cel de-al V-lea congres internațional s-a ținut de-abia în 1927 la Berlin, într-o perioadă în care teoria cromozomică a eredității se impusese și recent fusese descoperit fenomenul crossing-over.

Congresul al VI-lea de genetică a fost organizat în 1932 la New-York și Ithaca, sub președinția geneticianului american T. Morgan. Noutatea congresului a constituit-o expunerea de către R. A. Emerson a unei hărți cromozomiale „vii" la porumb.

La al VII-lea congres internațional de genetică ținut în 1939, la Edinburgh în Anglia, se vorbește pentru prima oară de posibilitatea ca acizii nucleici să aibă un rol genetic important. Astfel, la acest congres Astbury emite ipoteza că acizii nucleici ar constitui matrița pentru sinteza proteinelor, iar T. Caspersson elaborează o altă ipoteză, care se referă la rolul de cheie pe care l-ar avea acizii nucleici în sistemele de autoreproducere și în biosinteza proteinelor.

Congresul următor, al VIII-lea, s-a ținut în 1949 la Stockholm, după ce se descoperise experimental faptul că la microorganisme este posibilă transformarea genetică cu ajutorul unui A.D.N. străin. Cel de-al IX-lea congres internațional de genetică s-a ținut la Bellagio în Italia, iar cel de-al X-lea la Montreal în Canada, într-o epocă în care cercetările de citogenetică și genetică moleculară, cu ajutorul unor metode moderne de investigație, iau o mare amploare.

Ultimul congres internațional de genetică, al XI-lea, s-a ținut la Haga în Olanda și s-a bucurat de o largă participare : aproape 2 300 participanți din 59 de țări, printre care și țara noastră. S-au prezentat peste 800 de comunicări științifice și peste 100 referate de sinteză în cadrul a 25 de simpozioane axate pe cele mai importante probleme ale geneticii contemporane. Acest congres demonstrează din plin marea dezvoltare pe care au luat-o pe plan mondial cercetările de genetică, atît cele cu caracter teoretic cît și cele aplicative, cercetări care au dus la rezultate importante mai ales în domeniul studiului mecanismului molecular al eredității.

Scanned with OKEN Scanner

## CERCETĂRILE DE GENETICĂ ÎN ROMÂNIA

În țara noastră, cercetări de genetică teoretică și experimentală au început a fi efectuate încă în ultimele decenii ale secolului al XIX-lea și primele decenii ale secolului al XX-lea, imediat după apariția geneticii ca știință. Tradiția materialistă a orientării biologilor români care au îmbrățișat cu entuziasm teoria darwinistă și au contribuit la popularizarea ei în țara noastră s-a manifestat și în domeniul geneticii, în care s-au efectuat studii interesante într-o epocă în care cunoștințele despre ereditate erau foarte sumare.

Astfel cunoscutul biolog român N. Leon publică în 1904 în revista „Convorbiri literare" o lucrare intitulată *Ereditatea* și în care vorbește de o ereditate conservatoare prin care se păstrează tipul specific și o ereditate progresivă, fenomen prin care el înțelege mecanismele care duc la transformarea speciilor. În anul 1909 profesorul N. Filip publică un manual de zootehnie ce cuprinde un capitol mare de genetică, domeniu în care el dovedește o largă informare, fiind la curent cu teoriile lui G. Mendel, A. Weismann, W. Bateson, H. de Vries, C. Correns etc. și în care expune rezultatele unor cercetări personale de genetică animală.

Mai tîrziu, în 1915, C. Sandu-Aldea, un alt cunoscut biolog român, publică un manual de ameliorarea plantelor, în care sînt prezentate amplu diferitele teorii privind ereditatea, precum și unele cercetări ale sale referitoare la hibridarea intra- și interspecifică la plante.

O contribuție însemnată la răspîndirea cunoștințelor de genetică în țara noastră a constituit-o traducerea în limba română a lucrărilor fundamentale ale lui G. Mendel, Hugo de Vries, T. Morgan etc. încă în primele decenii ale secolului nostru.

Printre cei care au făcut primele studii de genetică în țara noastră pot fi citați biologi, medici și agronomi cunoscuți, ca: C. Vasilescu, G. K. Constantinescu, E. Racoviță, F. Rainer, Gh. Marinescu, C. T. Popescu, C. Oiescu, D. Voinov, N. Ionescu-Sișești, T. Săvulescu, Gh. Ionescu-Șișești.

În ultimii ani, datorită unui sprijin material substanțial, cercetările de genetică experimentală și teoretică au început să se dezvolte, înființîndu-se laboratoare de genetică la Institutul de Biologie, la Centrul de cercetări biologice de la Cluj, la Institutul Central de Cercetări agricole, la Institutul de cercetări forestiere, la facultățile de biologie, medicină și de agronomie etc. De asemenea, laboratoare care se ocupă îndeosebi de genetica microbiană și virusologică s-au organizat la Institutul de microbiologie, parazitologie și epidemiologie „Dr. I. Cantacuzino", la Institutul de Inframicrobiologie, iar cu studiul geneticii umane la Institutul de Endocrinologie, Institutul medico-legal, Institutul Oncologic. S-a mărit numărul cercetărilor și specialiștilor în genetică și s-au inițiat lucrări

interesante, dintre care pot fi citate : studiile de citogenetică asupra cariotipului și al poliploidiei la plante și animale, studiul citogenetic al unor maladii ereditare umane, al leucemiilor etc., cercetările privind mutațiile induse cu ajutorul radiațiilor ionizante și al unor substanțe chimice mutagene, cele privind fenomenul heterozis și androsterilitatea citoplasmatică, cercetările asupra acizilor nucleici și sinteza in vitro a unor acizi nucleici virali cu capacitate infecțioasă etc. Un interes deosebit îl prezintă, printre altele, cercetările unui colectiv de la Institutul de Inframicrobiologie, care a reușit încă din 1957 să demonstreze că acidul ribonucleic extras printr-o metodă proprie dintr-un virus complex, și anume virusul gripal, are capacitate infectantă la fel ca cel în cazul virusurilor simple, cum este virusul mozaicului tutunului. Tot la acest institut s-a reușit în 1963 biosinteza artificială a doi acizi nucleici cu capacitate infectantă.

Paralel cu lărgirea studiilor îndreptate spre cercetarea unor probleme fundamentale de genetică, în țara noastră s-au obținut unele realizări valoroase cu importanță practică în ameliorarea plantelor și animalelor. Printre altele s-au creat linii și soiuri poliploide la sfecla de zahăr, secară, orz, pepene verde, viță de vie, diferite plante ornamentale etc. Cercetările privind heterozisul s-au dezvoltat considerabil, și ele au dus, de pildă, la porumb, la crearea unor valoroși hibrizi dubli între linii consangvinizate care se cultivă în prezent în toată țara pe o suprafață de circa 4 milioane hectare. De asemenea, s-a demonstrat experimental că la sfecla de zahăr și floarea soarelui se pot obține hibrizi între linii consangvinizate care manifestă un puternic heterozis ; la plantele autogame, cum sînt grîul, orzul și inul, se fac cercetări pentru crearea de hibrizi pe bază de androsterilitate, iar la plante legumicole, ca tomatele, vinetele, castraveții, ardeii etc., s-au obținut hibrizi ce prezintă heterozis. În sfîrșit, la animale, la care hibrizii și metișii manifestă heterozis, metoda se folosește în practica zootehnică la păsări, taurine, ovine, porcine, viermi de mătase etc. pentru obținerea de animale cu productivitate mai mare.

*Primul simpozion național de genetică*, care s-a ținut în anul 1964 la Universitatea din București, a fost o manifestare de prestigiu în care s-au trecut în revistă succesele obținute și s-au trasat jaloanele activității viitoare. La acest simpozion s-au prezentat peste 70 de comunicări și referate științifice ce constituie contribuții originale ale geneticienilor români în principalele domenii ale acestei științe, și anume în citogenetică, radiogenetică, genetică moleculară, hibridare sexuată și heterozis, mutageneză chimică, ereditatea sexelor, eredopatologie etc. Ele au evidențiat printre altele introducerea continuă a metodelor moderne de cercetare în genetică, fapt care contribuie la îmbunătățirea lucrărilor de cercetare și la realizarea lor la nivelul actual al științei. Desigur că, ținînd seama de dezvoltarea geneticii pe plan mondial și de importanța

Scanned with OKEN Scanner

teoretică și practică a acestei științe, este necesară în viitor o concentrare a forțelor și o coordonare mai bună a cercetărilor pentru a se asigura extinderea și adîncirea studiilor de genetică, atît a celor cu caracter fundamental cît și a celor cu aplicare practică în agricultură, zootehnie, silvicultură, medicină umană, industria fermentativă etc. La *al II-lea Simpozion Național de Genetică* care s-a ținut în 1967 s-au prezentat peste 100 comunicări științifice de participanți români și străini, rezultatele cercetărilor demonstrînd progresul continuu al geneticii în țara noastră. Nu trebuie uitat că cercetările de genetică au nu numai însemnătate teoretică, ci prezintă și implicații economice din cele mai importante, după cum trebuie ținut seama că cercetările de genetică umană au o mare importanță pentru profilaxia și terapeutica unor maladii ereditare, pentru combaterea cancerului — acest flagel al omenirii contemporane — și pentru protecția genetică a populației actuale și a generațiilor viitoare.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL II

# LEGILE MENDELIENE ALE SEGREGĂRII

## G. MENDEL, UNUL DINTRE FONDATORII GENETICII

Un moment important în istoria biologiei îl constituie apariția în 1865 a lucrării *Versuche über Pflanzenhybriden* a naturalistului și matematicianului ceh Gregor Mendel (1822—1884), în care au fost prezentate rezultatele cercetărilor sale privind hibridarea la plante, teoria sa asupra factorilor ereditari și pe această bază au fost elaborate legile segregării. Datorită acestor realizări, G. Mendel este considerat unul dintre fondatorii geneticii ca știință.

Gregor Mendel a studiat științele naturii la Viena în perioada 1851—1854 și apoi a devenit profesor de științe naturale și matematică la liceul din Brno (Cehoslovacia). Fiind sărac, cu posibilități materiale reduse, a fost nevoit să intre de tînăr la mănăstire în Ordinul Augustinilor și numai astfel a reușit să urmeze cursuri universitare și să efectueze experiențele care aveau să-l facă celebru. Dar G. Mendel a fost nu numai un experimentator și teoretician priceput, ci și un practician pasionat care s-a ocupat în tot cursul vieții cu cultivarea și studierea diferitelor specii de legume, flori și pomi fructiferi. În anul 1883, cu cîteva luni înainte de moarte, a fost distins cu medalia Societății Austriece de Pomologie pentru soiurile de meri și peri create de el și prezentate cu ocazia unei expoziții.

G. Mendel a început cunoscutele sale experiențe de hibridare la plante în 1857, și opt ani mai tîrziu el sintetizează rezultatele obținute în cele două legi ale segregării, și anume : *legea purității gameților sau a separării factorilor ereditari și legea liberei combinații a factorilor ereditari sau a segregării independente a perechilor de caractere.*

G. Mendel a început experiențe de hibridare la diferite plante, ca *Pisum, Hieracium, Phaseolus, Cirsium, Linaria, Mirabilis, Melandrium,*

*Zea, Verbascum, Antirrhinum, Ipomaea, Tropaeolum, Calceolaria* etc., însă în mod deosebit a făcut cercetări la mazăre *(Pisum sativum)*, plantă autogamă, care are caractere morfologice ce se pot ușor recunoaște. El a început să lucreze cu 34 de soiuri de mazăre, pe care le-a cultivat mai întîi timp de doi ani, pentru a vedea dacă caracterele și însușirile plantelor se mențin constante de la o generație la alta. Din acestea, G. Mendel a ales 22 de soiuri, care aveau caractere constante și distincte.

## LEGEA PURITĂȚII GAMEȚILOR

Prin încrucișarea între mazărea cu bobul neted (această caracteristică a bobului se datorește amidonului) și mazărea cu bobul zbîrcit (aceasta datorîndu-se unui conținut ridicat de dextrină), el a obținut în prima generație numai plante cu boabe netede. Acest caracter a fost denumit de G. Mendel caracter *dominant,* în timp ce caracterul „bob zbîrcit" care nu a apărut în prima generație a fost denumit *recesiv.* Prin autopolenizarea plantelor din prima generație a obținut în generația a doua atît plante cu boabe netede cît și cu boabe zbîrcite. Din totalul de 7 324 de boabe, 5 474 erau netede și numai 1 850 erau zbîrcite, proporția între caracterul dominant și cel recesiv fiind de 2,9896 : 1,0104, deci aproape 3 : 1.

G. Mendel a cercetat modul cum are loc segregarea și la alte perechi de caractere : cotiledoane galbene și verzi, coaja bobului colorată și albă, păstăi tari și moi, păstăi verzi și galbene, flori axilare și terminale, plante înalte și pitice. În prima generație a obținut plante uniforme, asemănătoare cu un părinte, iar în generația a doua s-a produs segregarea în proporții de 3 : 1.

| Însușirea | Caractere dominante | Caractere recesive | Dominante | Recesive | Proporția *D : R* |
|---|---|---|---|---|---|
| Forma boabelor | neted | zbîrcit | 5474 | 1850 | 2,986 : 1,0104 |
| Culoarea cotiledoanelor | galben | verde | 6022 | 2001 | 3,0023 : 0,9977 |
| Culoarea cojii boabelor | colorată | albă | 705 | 224 | 3,0355 : 0,9645 |
| Consistența păstăilor | tare | moale | 882 | 299 | 2,9873 : 1,0127 |
| Culoarea păstăilor | verde | galben | 428 | 152 | 2,9517 : 0,0483 |
| Dispoziția florilor | axiliar | terminal | 651 | 207 | 3,0349 : 0,9651 |
| Forma plantei | înaltă | pitică | 787 | 277 | 2,9586 : 1,0414 |
| Total pentru toate însușirile | — | — | 14949 | 5010 | 2,9933 : 1,0067 |

G. Mendel explică segregarea celor două caractere studiate „bob neted" și „bob zbîrcit" ca fiind datorată prezenței în celule a două tipuri de factori ereditari. Plantele din soiul cu boabe netede conțin exclusiv factorul ereditar care determină acest caracter, iar cele din soiul cu boabe zbîrcite conțin exclusiv factorul ereditar al caracterului respectiv. La hibrizii din prima generație, factorii ereditari ai mamei și tatălui sînt suprapuși, astfel că, atunci cînd aceste plante formează gameții, factorii ereditari se separă, fiecare gamet neavînd decît un singur tip de factor ereditar. Gameții sînt în felul acesta puri din punct de vedere genetic. Prin unirea acestor gameți pe bază de probabilitate în procesul fecundării se obțin plantele generației a doua, care se comportă astfel :

*a)* 25% din plante sînt de rasă pură cu bobul neted, avînd un singur tip de factori ereditari ;

*b)* 25% din plante sînt de rasă pură cu bobul zbîrcit, avînd exclusiv celălalt tip de factori ereditari ;

*c)* 50% din plante sînt cu bobul neted, însă posedă ambii factori ereditari suprapuși.

Plantele care nu posedă decît un tip de factori ereditari sînt pure din punct de vedere genetic, fiind denumite *homozigote*. Plantele hibride care posedă ambii factori ereditari (alele) sînt impure din punct de vedere genetic, fiind denumite *heterozigote*. La indivizii heterozigoți care au ambii factori ereditari nu se modifică însă decît unul dintre ei, și anume cel *dominant*, iar celălalt rămîne în stare ascunsă, fiind *recesiv*. Pe această bază, G. Mendel a ajuns la concluzia că trebuie deosebite noțiunea de *genotip*, prin care se înțelege totalitatea factorilor ereditari (gene) dominanți și recesivi ai organismului, de noțiunea de *fenotip*, prin care se înțelege totalitatea caracterelor manifestate. La organismele heterozigote se manifestă numai o parte dintre factorii ereditari,

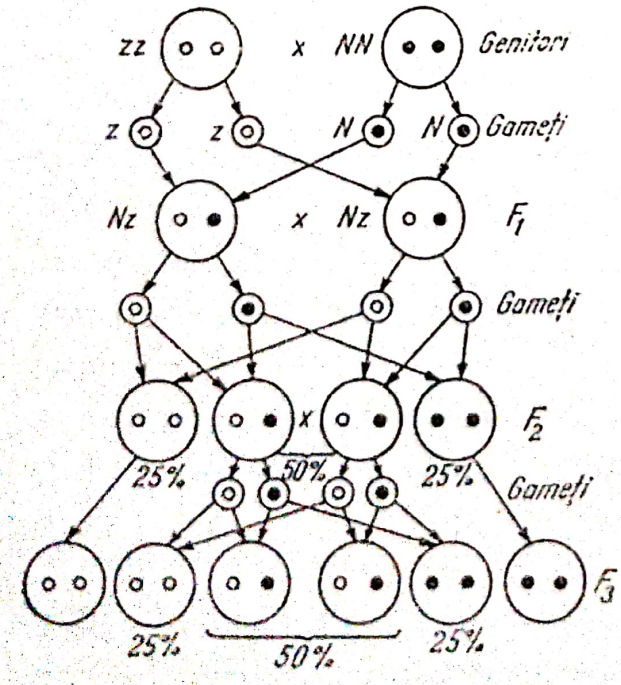



Fig. 4. Segregarea la hibrizii între mazărea cu bobul neted (*NN*) și cea cu bobul zbîrcit (*z z*).

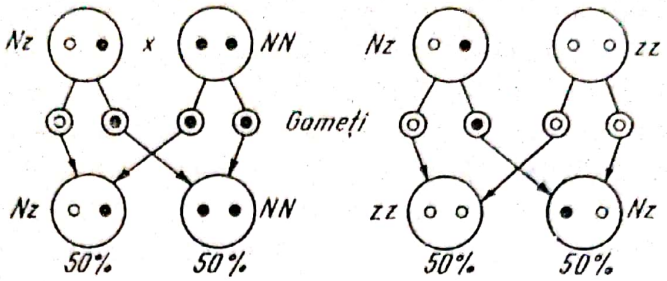



Fig. 5. Segregarea la încrucișarea între plantele heterozigote *(N z)* cu genitorii (backcross).

cei recesivi rămînînd ascunși. Ca urmare, există o deosebire între genotipul și fenotipul lor.

Prin autofecundarea generației a doua se obține generația a treia, la care se observă următoarele :

*a)* din plantele de rasă pură cu bobul neted se obțin exclusiv plante cu bobul neted ;

*b)* din plantele de rasă pură cu bobul zbîrcit se obțin exclusiv plante de acest tip ;

*c)* plantele heterozigote cu bobul neted segregă în felul următor : 25% plante homozigote cu bobul neted, 25% plante homozigote cu bobul zbîrcit și 50% plante heterozigote cu bobul neted. Deci plantele heterozigote din generația a doua se comportă în generația a treia la fel cum se comportă hibrizii din prima generație.

Dacă florile plantelor hibride din prima generație se polenizează cu polen de la plantele genitorului cu bobul neted (back-cross), atunci se obțin în generația a doua numai plante cu boabe netede, din care însă 50% sînt homozigote și 50% heterozigote. Din contră, dacă florile plantelor hibride din prima generație se polenizează cu polen de la plantele genitorului cu bobul zbîrcit (back-cross), atunci se formează în generația a doua jumătate plante heterozigote cu bobul neted și jumătate homozigote cu bobul zbîrcit.

Studiul modului cum se comportă în descendență hibrizii dintre plante care se deosebesc printr-o singură pereche de caractere l-a dus pe G. Mendel la elaborarea primei sale legi, și anume *legea separării factorilor ereditari sau legea purității gameților. Conform acestei legi, gameții sînt întotdeauna puri din punct de vedere genetic, adică nu conțin decît unul dintre factorii ereditari pereche (alele). Prin unirea pe bază de hazard a acestor gameți puri apare în generația a doua fenomenul segregării în proporție de 3 dominant la 1 recesiv.*

## LEGEA SEGREGĂRII INDEPENDENTE A CARACTERELOR

G. Mendel a studiat mai departe cazul cînd genitorii se deosebesc prin două perechi de caractere. El a încrucișat, de exemplu, mazărea cu bobul neted și de culoare galbenă cu mazărea cu bobul zbîrcit și de

culoare verde. În prima generație hibridă, toate plantele aveau boabele netede și de culoare galbenă (caractere dominante). Prin autofecundarea plantelor din prima generație s-a obținut generația a doua, care prezenta din numărul total de boabe : 9/16 boabe netede și galbene, 3/16 zbîrcite și galbene, 3/16 netede și verzi și 1/16 zbîrcite și verzi. Această segregare se explică, după G. Mendel, prin aceea că hibrizii din prima generație, proveniți din părinți ce se deosebesc prin două perechi de caractere, formează patru categorii de gameți, în care se află cîte un singur factor ereditar. *Prin combinarea celor 4 categorii de gameți se formează în total 16 combinații, care reprezintă tocmai segregarea în cazul încrucișării părinților ce se deosebesc prin două perechi de caractere ce se realizează astfel : 9 : 3 : 3 : 1.*

Pentru a ilustra acest tip de segregare se pot nota diferitele caractere cu litere în felul următor : *A* = bob neted, *a* = bob zbîrcit, *B* = bob galben, *b* = bob verde. Prin unirea acestor caractere două cîte două se obțin 4 tipuri de gameți masculi : *AB* = bob neted și galben, *Ab* = bob neted și verde, *aB* = bob zbîrcit și galben, *ab* = bob zbîrcit și verde, precum și 4 tipuri identice de gameți femeli. Prin unirea pe bază de probabilitate a celor 4 tipuri de gameți masculi *(AB, Ab, aB, ab)* cu cele 4 tipuri de gameți femeli *(AB, Ab, aB, ab)* se formează 16 combinații de caractere și 4 tipuri de organisme :

*1)* 9/16 cu două caractere dominante *(AB)* ;
*2)* 3/16 cu un caracter dominant și unul recesiv *(Ab)* ;
*3)* 3/16 cu un caracter recesiv și unul dominant *(aB)* ;
*4)* 1/16 cu două caractere recesive *(ab)*.

Mai complicată se prezintă situația atunci cînd se încrucișează organisme care se deosebesc prin trei perechi de caractere *Aa, Bb, Cc*. În acest caz se formează 8 tipuri de gameți masculi *(ABC, ABc, AbC, aBC, Abc, aBc, abC, abc)* și opt tipuri de gameți femeli *(ABC, ABc, AbC, aBC, Abc, aBc, abC, abc)*, prin a căror unire pe bază de hazard se formează 64 combinații și 8 tipuri de organisme :

*1)* 27/64 cu trei caractere dominante *(ABC)* ;
*2)* 9/64 cu două caractere dominante și unul recesiv *(ABc)* ;
*3)* 9/64 cu două caractere dominante și unul recesiv *(AbC)* ;
*4)* 9/64 cu două caractere dominante și unul recesiv *(aBC)* ;
*5)* 3/64 cu un caracter dominant și două recesive *(Abc)* ;
*6)* 3/64 cu un caracter dominant și două recesive *(aBc)* ;
*7)* 3/64 cu un caracter dominant și două recesive *(abC)* ;
*8)* 1/64 cu trei caractere recesive *(abc)*.

Scanned with OKEN Scanner

Matematic, legea lui G. Mendel ce se referă la hibridarea între organisme care se deosebesc prin una sau mai multe perechi de caractere, este redată în tabelul anexat.

În felul acesta G. Mendel a ajuns la concluzia că la încrucișarea între organisme care se deosebesc prin două sau mai multe perechi de caractere are loc fenomenul segregării independente a perechilor de caractere. De pildă, în cazul hibridării între un organism cu două caractere dominante *A B* și altul cu două caractere recesive *a b*, hibrizii din $F_1$ formează nu numai gameți de tip matern sau patern (*A B* și *a b*), ci și gameți care posedă posibilitățile de dezvoltare ale unui caracter de la un genitor și ale celuilalt caracter de la celălalt genitor (*A b* și *a B*).

G. Mendel considera că ereditatea unei perechi de caractere este independentă de ereditatea celeilalte perechi de caractere, astfel că și segregarea are loc independent. Dacă în exemplul de mai sus se studiază segregarea perechii de caractere bob neted și zbîrcit fără să se țină seama de culoarea boabelor (galbenă sau verde), atunci se obține același raport de 3 : 1 între boabele netede și cele zbîrcite. Invers, dacă se urmărește segregarea perechii de caractere bob galben sau verde fără să se țină seama de forma bobului (neted sau zbîrcit), atunci se obține raportul de 3 : 1 între boabele galbene și verzi.

G. Mendel a continuat experiențele de hibridare cu plante de mazăre care se deosebesc între ele prin trei, patru și așa mai departe pînă la șapte perechi de caractere, cercetînd numeric proporția în care are loc segregarea. Din aceste cer-

| Nr. de perechi de caractere | Tipuri de gameți în $F_1$ | Nr. de combinații în $F_2$ | Nr. de genotipuri în $F_2$ | Nr. de fenotipuri în $F_2$ | | Segregarea după fenotip |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | *Tip Pisum* | *Tip Zea* | |
| 1 | 2 | 4 | 3 | 2 | 3 | 3:1 sau 1:2:1 |
| 2 | 4 | 16 | 9 | 4 | 9 | 9:3:3:1 |
| 3 | 8 | 64 | 27 | 8 | 27 | 27:9:9:9:3:3:3:1 |
| 4 | 16 | 256 | 81 | 16 | 81 | $(3+1)^4$ |
| 10 | 1 024 | 1 048 576 | 59 049 | 1 024 | 59 049 | $(3+1)^{10}$ |
| n | 2n | $(2n)2$ | 3n | 2n | 3n | $(3+1)^n$ |

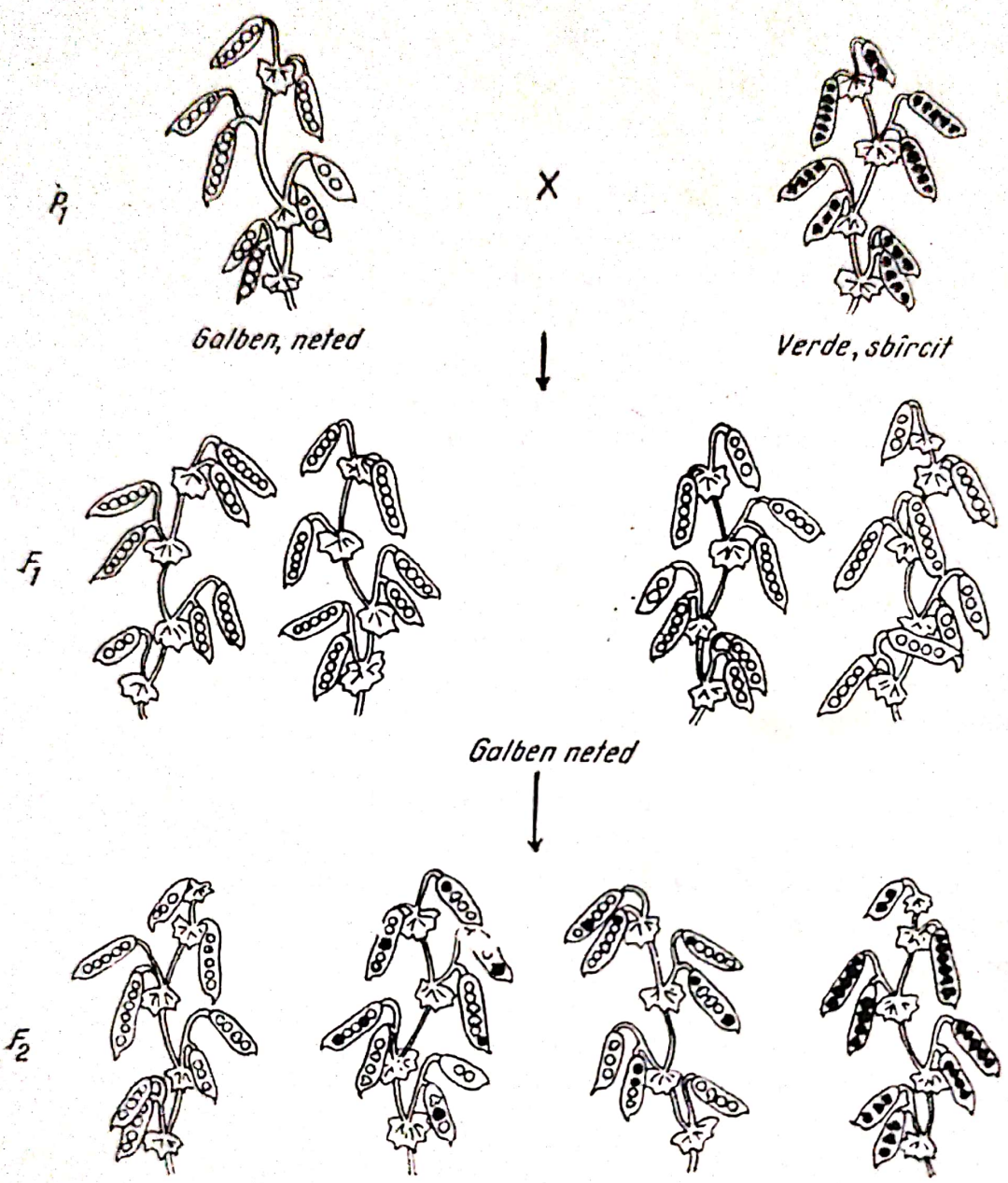



Fig. 6. Rezultatele hibridării între mazărea cu boabe galbene și netede (caractere dominante) și cea cu boabe verzi și zbîrcite (caractere recesive).

cetări, Mendel a elaborat cea de-a doua lege a sa : *legea liberei combinări a factorilor ereditari sau legea segregării independente a perechilor de caractere. Conform acestei legi, factorii ereditari pereche (alele) segregă independent de alți factori ereditari, și prin combinarea lor pe bază de probabilitate raportul de segregare în $F_2$ este de 3 dominant la 1 recesiv.*

Scanned with OKEN Scanner

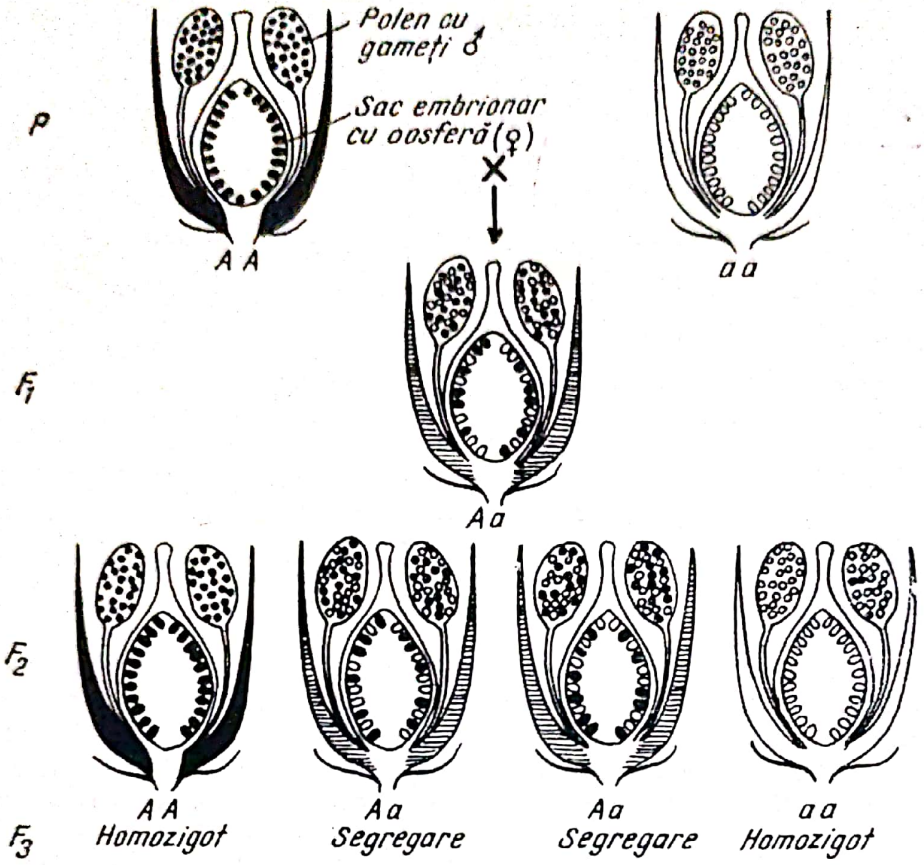



Fig. 7. Reprezentarea schematică a încrucișării între două soiuri pure de plante.

## ALTE CERCETĂRI PRIVIND LEGILE MENDELIENE

Cercetările efectuate de G. Mendel la mazăre au fost reluate în jurul anului 1900 de mai mulți experimentatori, care au găsit rezultate similare, mai ales în cazul cînd s-a lucrat cu un număr mai mare de plante. De pildă, studiul segregării în $F_2$ la hibrizii între soiuri de mazăre cu boabe de culoare diferită, a arătat că prin însumarea rezultatelor obținute de G. Mendel și de alți șase geneticieni raportul de segregare procentual este de 75,09 : 24,91, adică aproape exact 3 : 1.

De asemenea, s-a dovedit ulterior că legile mendeliene sînt valabile și la animale. Astfel, în 1901 W. Bateson prezintă la Societatea regală din Londra rezultatele experiențelor sale de încrucișare între mai multe rase de găini ce se deosebeau prin tipul crestei, din care reiese că în prima generație ($F_1$) tipul „trandafir" și „mazăre" sînt dominante

REZULTATELE EXPERIENȚELOR DE ÎNCRUCIȘARE LA MAZĂRE CU BOABE DE CULORI DIFERITE

| Numele cercetătorilor | Boabe galbene | | Boabe verzi | | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| | Nr. | % | Nr. | % | |
| Mendel, 1865 | 6 022 | 75,05 | 2 001 | 24,95 | 8 023 |
| Correns, 1900 | 1 394 | 75,47 | 453 | 24,53 | 1 847 |
| Tschermak, 1900 | 3 580 | 75,05 | 1 190 | 24,95 | 4 770 |
| Hurst, 1904 | 1 310 | 74,64 | 445 | 25,36 | 1 755 |
| Bateson, 1905 | 11 902 | 75,30 | 3 903 | 24,70 | 15 806 |
| Lack, 1905 | 1 438 | 73,67 | 514 | 26,33 | 1 952 |
| Darbishire, 1909 | 109 060 | 75,09 | 36 186 | 24,91 | 145 246 |
| TOTAL | 134 706 | 75,09 | 44 692 | 24,91 | 179 399 |

asupra tipului „simplu", iar în $F_2$ segregarea se produce în proporție de 3 : 1. Mai tîrziu, în anul 1909, se înființează la Universitatea din Cambridge (Anglia) prima catedră de genetică, profesor fiind numit W. Bateson. În 1902 geneticianul francez L. Cuénot face încrucișări între tipul sălbatic de șoarece și tipul albinos și obține în $F_2$ o segregare de 3 : 1.

În Statele Unite, geneticianul W. E. Castle începe, de asemenea, cercetări privind legile mendeliene la animale și în 1903 publică cinci lucrări asupra segregării la mamifere în special referitor la culoarea blănii la șobolan, șoarece, cobai, iepure etc. Ulterior el devine unul dintre marii specialiști în problemele de genetică animală. Ca și ceilalți geneticieni citați mai sus, el descoperă că legile mendeliene au valabilitate și în ce privește ereditatea la animale.

În sfîrșit, trebuie amintit geneticianului danez W. Johannsen, care în 1905 publică una dintre primele cărți de genetică din lume intitulată *Elemente de genetică* în care expune printre altele și legile mendeliene, fapt care prezintă o deosebită importanță pentru cunoașterea lor în lumea științifică.

## INTERPRETAREA MATEMATICĂ A LEGILOR MENDELIENE

O problemă foarte importantă privind legile mendeliene ale segregării este următoarea : care este probabilitatea ca în cazul repetării lor să se obțină rezultate similare. Această problemă a stat și în atenția lui G. Mendel, care, fiind și matematician, a încercat să aplice cal-

culul probabilității la interpretarea rezultatelor sale experimentale. Astfel, în cazul încrucișării între organisme ce diferă printr-o pereche de caractere *(AA* și *aa)* se obțin în prima generație exclusiv heterozigoți *(Aa)* la care se manifestă fenotipic caracterul dominant, iar aceste organisme heterozigote produc două tipuri de gameți *(A* și *a)* în proporție egală. Prin combinarea lor pe bază de probabilitate se obțin următoarele tipuri de organisme :

| ♂ / ♀ | *A* 50% | *a* 50% |
|---|---|---|
| *A* 50% | *A A* 25% | *A a* 25% |
| *a* 50% | *A a* 25% | *a a* 25% |

Dar tipurile de organisme *AA* (25%) și *Aa* (50%) sînt identice fenotipic, astfel că în $F_2$ segregarea după fenotip este de 75% *A* și 25% *a*, adică 3 : 1.

În cazul încrucișării între plante de mazăre care se deosebesc prin două perechi de caractere, G. Mendel a observat în $F_2$ că aproximativ 3/4 din boabe erau netede (423/556) și aproximativ 1/4 erau zbîrcite (133/556). În ceea ce privește culoarea boabelor, a observat, de asemenea, că aprovimativ 3/4 erau galbene (416/556) și aproximativ 1/4 erau verzi (140/556). Aceasta arată că cele două perechi de caractere segregă independent una de alta. Dacă se luau în considerare ambele perechi de caractere, rezultatele ar fi dovedit că sînt conforme modelului matematic prin care două fenomene independente acționează împreună. Pe baza calculului probabilităților șansa combinării a două fenomene independente este egală cu produsul probabilității lor separate. Astfel G. Mendel a prevăzut că 9/16 (3/4 × 3/4) din boabe vor fi netede și galbene, 3/16 (3/4 × 1/4) vor fi netede și verzi, 3/16 (1/4 × 3/4) vor fi zbîrcite și galbene și 1/16 (1/4 × 1/4) vor fi zbîrcite și verzi. Deci segregarea în $F_2$ ar trebui să se facă în raportul 9 : 3 : 3 : 1. El a găsit în realitate următorul număr de boabe : 315 netede și galbene : 108 netede și verzi : 101 zbîrcite și galbene : 32 zbîrcite și verzi.

Pentru a vedea dacă această segregare are un caracter pur întîmplător sau este vorba de o legitate a segregării, se poate aplica așa-numitul *test chi pătrat* ($\chi^2$) *pentru a compara distribuția teoretică a fenomenelor cu cea experimentală.* În acest fel se poate verifica dacă ipoteza teoretică inițială este în acord sau dezacord cu faptele experimentale. Formula pentru testul chi pătrat este următoarea :

$$\chi^2 = \sum \frac{d^2}{e},$$

în care $d$ = diferența între valoarea calculată și cea observată a fenomenului ;

$e$ = valoarea calculată a fenomenului ;

$\Sigma$ = semnul sigma de însumare.

În tabelul următor este reprezentat calculul în exemplul lui G. Mendel cu ajutorul testului chi pătrat :

| Datele | Numărul de boabe | | | |
|---|---|---|---|---|
| | netede și galbene | netede și verzi | zbîrcite și galbene | zbîrcite și verzi |
| observate | 315 | 108 | 101 | 32 |
| calculate | 312,75 | 104,15 | 104,75 | 34,75 |
| diferența (d) | −2,25 | −3,75 | +3,25 | +2,75 |
| $d^2$ | 5,06 | 14,06 | 10,56 | 7,56 |
| $\frac{d^2}{e}$ | 0,016 | 0,135 | 0,101 | 0,218 |
| $\chi^2 = \Sigma \frac{d^2}{e}$ | $\chi^2 = 0{,}470$ | | | |

Cercetările de statistică matematică au dus la apariția unei metode pentru estimarea probabilității de repetare a fenomenului în cazul unor valori diferite ale testului chi pătrat. În acest scop se folosesc tabelele lui R. A. Fisher, care indică în procente probabilitatea pentru valorile lui $\chi^2$, ținînd seama de numărul de grade de libertate care este egal cu numărul de clase independente de indivizi minus unu. În cazul nostru, numărul de clase de indivizi apărute în urma segregării este egal cu 4, iar al gradelor de libertate este deci egal cu 3.

**TABELUL LUI R. A. FISHER PENTRU ESTIMAREA PROBABILITĂȚII ÎN CAZUL A DIFERITE VALORI PENTRU $\chi^2$**

| Nr. de grade de libertate | Valorile lui P | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0,99 | 0,95 | 0,90 | 0,80 | 0,70 | 0,50 | 0,30 | 0,10 | 0,05 | 0,01 |
| 1 | 0,0002 | 0,004 | 0,016 | 0,064 | 0,15 | 0,46 | 1,1 | 2,7 | 3,8 | 6,6 |
| 2 | 0,02 | 0,10 | 0,21 | 0,45 | 0,71 | 1,39 | 2,4 | 4,6 | 6.0 | 9,2 |
| 3 | 0,12 | 0,35 | 0,58 | 1,01 | 1,42 | 2,37 | 3,7 | 6,3 | 7,8 | 11,3 |
| 4 | 0,30 | 0,71 | 1,06 | 1,65 | 2,20 | 3,36 | 4,9 | 7,8 | 9,5 | 13,3 |
| 5 | 0,55 | 1,14 | 1,61 | 2,34 | 3,00 | 4,35 | 6,1 | 9,2 | 11,1 | 15,1 |
| 6 | 0,87 | 1,63 | 2,20 | 3,07 | 3,83 | 5,35 | 7,2 | 10,6 | 12,6 | 16,8 |
| 7 | 1,24 | 2,17 | 2,83 | 3,82 | 4,67 | 6,35 | 8,4 | 12,0 | 14,1 | 18,5 |
| 8 | 1,65 | 2,73 | 3,49 | 4,59 | 5,53 | 7,34 | 9,5 | 13,4 | 15,5 | 20,1 |
| 9 | 2,09 | 3,32 | 4,17 | 5,38 | 6,39 | 8,35 | 10,6 | 14,7 | 16,9 | 21,7 |
| 10 | 2,56 | 3,94 | 4,87 | 6,18 | 7,27 | 9,34 | 11,8 | 16,0 | 18,3 | 23,2 |

Scanned with OKEN Scanner

Valoarea lui $\chi^2$ de 0,47 în cazul nostru este cuprinsă între 0,35 și 0,58, adică între probabilitățile P = 0,95 și P = 0,90. Ca urmare se poate spune că în cazul repetării experienței se vor obține rezultate similare în 90—95% din cazuri. În general se consideră în mod arbitrar că probabilitatea de transgresiune este semnificativă atunci cînd P>5%, adică atunci cînd șansa ca o ipoteză adevărată să fie eliminată în mod accidental este de 1 la 20. În cazul nostru, valoarea lui P este cuprinsă între 5 și 10%, deci practic probabilitatea ca ipoteza inițială dacă este adevărată va fi eliminată în numai 1 la 10 sau 1 la 20 din cazuri. Ca urmare se poate spune practic, în mod sigur, că ipoteza inițială că segregarea a două perechi de caractere are loc în raportul 9 : 3 : 3 : 1 este adevărată.

## VARIAȚIA HETEROZIGOȚIEI ÎN DIFERITE GENERAȚII

La plantele autogame, prin încrucișarea între două linii homozigote care se deosebesc printr-o pereche de caractere alelomorfe *(Aa)*, în $F_2$ se va obține următoarea segregare : *1 AA : 2 Aa : 1 aa*. Aceasta înseamnă că hibridul *(Aa)* reprezintă 50% din totalul indivizilor. Dacă se consideră că fiecare plantă va produce în $F_3$ cîte patru descendenți, atunci *1 AA* va produce *4 AA*, iar *1 aa* va produce *4 aa*. În același timp însă *2 Aa* va produce opt plante repartizate astfel : *2 AA : 4 Aa : 2 aa*. Aceasta înseamnă că în total în $F_3$ vom avea *6 AA : 4 Aa : 6 aa*. În felul acesta plantele heterozigote reprezintă numai 25% din totalul plantelor.

Dacă se consideră că fiecare plantă autopolenizată produce cîte patru descendenți, atunci în cazul hibridării *AA* × *aa* se obțin următoarele rezultate teoretice în cursul diferitelor generații *($F_1$, $F_2$ $F_3$ .....Fn)* :

| Generația | Nr. plante după genotip | | | % de plante după genotip | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *AA* | *Aa* | *aa* | *AA* | *Aa* | *aa* |
| $F_1$ | — | 1 | — | — | 100 | — |
| $F_2$ | 1 | 2 | 1 | 25 | 50 | 25 |
| $F_3$ | 6 | 4 | 6 | 37,50 | 25 | 37,50 |
| $F_4$ | 28 | 8 | 28 | 43,75 | 12,50 | 43,75 |
| $F_5$ | 120 | 16 | 120 | 46,875 | 6,25 | 46,875 |
| $F_6$ | 496 | 32 | 496 | 48,4375 | 3,125 | 48,4375 |
| $F_n$ | $\frac{4^n - 2^{n-1}}{2}$ | $2^{n-1}$ | $\frac{4^n - 2^{n-1}}{2}$ | — | — | — |

Scanned with OKEN Scanner

Astfel, în generația a șasea numai aproximativ 3% din plante sînt heterozigote, în timp ce cîte 48,5% sînt homozigote, reprezentînd fiecare genotip în parte (*AA* și *aa*). În generația a opta numai aproximativ 1% din plante sînt heterozigote. Aceasta înseamnă că marea majoritate a plantelor în *Fs* va fi sau *AA* sau *aa*, și numai 1% va fi heterozigotă. Aceste procente se reduc în fiecare generație la jumătate.

În lucrările lui Mendel se dă ca exemplu încrucișarea între *AA* × *aa*, în care se obțin în $F_1$ un număr de 1 600 plante hibride. Dacă se consideră că fiecare plantă produce numai un descendent, ce se va întîmpla în generațiile următoare ?

| | | | |
|---|---|---|---|
| $F_1$ | — | 1 600 *A A* | — |
| $F_2$ | 400 *A A* | 800 *A a* | 400 *a a* |
| $F_3$ | 600 *A A* | 400 *A a* | 600 *a a* |
| $F_4$ | 700 *A A* | 200 *A a* | 700 *a a* |
| $F_5$ | 750 *A A* | 100 *A a* | 750 *a a* |
| $F_6$ | 775 *A A* | 50 *A a* | 775 *a a* |

Se poate observa că numărul de plante heterozigote se reduce la jumătate în fiecare generație. În schimb crește numărul de plante din cele două linii pure (homozigote).

Ce se va întîmpla în cazul încrucișării între plante care se deosebesc prin două perechi de caractere *Aa* și *Bb* ? După un număr de generații se vor reduce foarte mult numărul de plante heterozigote (în fiecare generație cu 50%) și va crește numărul plantelor homozigote, însă de patru tipuri : *AA BB, AA bb, aa BB, aa bb*. În felul acesta, pornindu-se de la două linii pure diferind prin două perechi de caractere, se ajunge la patru linii pure homozigote. Dacă genitorii diferă prin mai multe perechi de caractere, atunci se obține o mai mare diversificare și respectiv un număr mai mare de linii pure. Este posibil astfel ca prin încrucișare, întreaga populație inițială a unei plante autogame să se separe în tipuri distincte sau varietăți, în urma unui proces de recombinare genetică.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL III

# ALTE TIPURI DE SEGREGARE

Descoperirea de către G. Mendel a legilor după care se realizează segregarea în urma hibridării a însemnat un important pas înainte în cunoașterea mecanismului prin care se realizează transmiterea caracterelor la descendenți. S-a constatat însă că datorită unor cauze diferite, ca : interacțiunea unor factori ereditari (gene), existența unor gene letale sau semiletale, fenomenelor de polialelism, de pleiotropie, de polimerie, de epistazie etc., raportul în care se realizează segregarea se poate modifica considerabil.

Unul dintre primii naturaliști care a remarcat acest fenomen și a sintetizat cunoștințele din epoca sa în acest domeniu a fost K. A. Timiriazev (1843—1920), care a elaborat o clasificare originală a tipurilor de ereditate. Astfel, în cazul *eredității complexe*, caracteristică hibridării sexuate, el deosebește mai multe tipuri : *ereditatea amestecată*, prin care apar la un același individ atît caractere materne cît și paterne, *ereditatea contopită*, care se manifestă prin aceea că la hibrizi apar caractere intermediare între cei doi părinți, și *ereditate cu excludere reciprocă*, în cadrul căreia există două subtipuri : *millardeismul*, fenomen descoperit de savantul francez A. Millardet, constînd în apariția în descendență a caracterelor unui singur genitor *(dominanță absorbantă maternă* și *dominanță absorbantă paternă)*, și *mendelismul*, fenomen descoperit de G. Mendel și prin care în prima generație apar caractere dominante ale unui singur genitor, pentru ca în generația a doua să se producă segregarea care duce la reapariția caracterelor genitorilor.

Tipul clasic de segregare descoperit de G. Mendel la *Pisum sativum* presupune în cazul unei perechi de gene segregarea în $F_2$ în



Scanned with OKEN Scanner

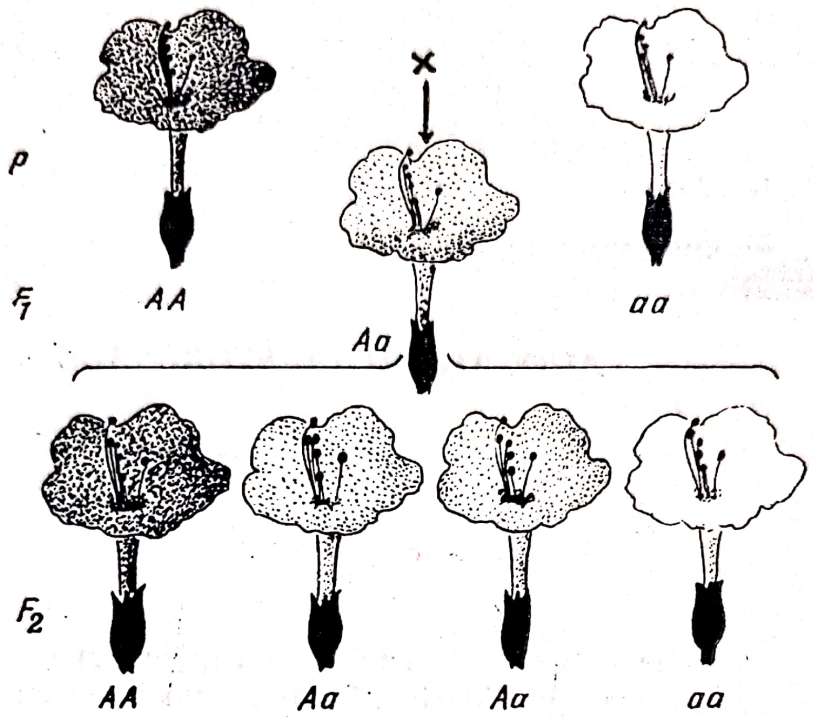



Fig. 8. Segregarea la hibrizii dintre o varietate cu flori roșii *(A A)* și una cu flori albe *(a a)* de *Mirabilis jalappa.*

raport de 3 : 1, iar în cazul a două perechi de gene, segregarea în raport de 9 : 3 : 3 : 1. Acest tip de segregare în care în cazul unei perechi de gene în prima generație domină caracterele unui genitor, iar în a doua generație se produce segregarea în raport de 3 dominant la 1 recesiv a primit denumirea de *segregare de tip Pisum.*

Un alt tip de segregare a fost observat la *Zea mays,* la care prin încrucișarea unei varietăți cu boabe albastre *(AA)* cu o varietate cu boabe galbene *(aa)* în $F_1$ au rezultat plante cu boabe violete *(Aa),* culoare intermediară între genitori. În $F_2$ s-a produs segregarea astfel : 1 albastru : 2 violet : 1 galben. Acest tip de segregare în care organismele heterozigote *(Aa)* prezintă caractere intermediare între genitori, iar în $F_2$ segregarea se produce în raport de 1 : 2 : 1, a primit denumirea de *segregare de tip Zea.* Un exemplu de segregare de tip Zea la plante este cel dat de C. Correns, care a încrucișat două varietăți de *Mirabilis jalappa* cu flori roșii și cu flori albe. În $F_1$, toate plantele prezentau flori roz, iar în $F_2$ segregarea s-a produs astfel : 25% din plante cu flori roșii, 25% cu flori albe și 50% cu flori roz. Aceasta înseamnă că plantele heterozigote prezintă flori de culoare intermediară, iar segregarea are loc în raport de 1 : 2 : 1.

Scanned with OKEN Scanner

La păsări, un exemplu bine cunoscut este cel al găinilor de Andaluzia cu penajul de culoare albăstruie. Aceste găini provin din încrucișarea unei rase de găini cu penajul negru cu o rasă cu penajul alb. În $F_1$, toate păsările au penajul albăstrui, iar în $F_2$ se produce segregarea astfel : 25% penaj negru, 25% penaj alb și 50% penaj albăstrui, adică 1 : 2 : 1. Aceasta înseamnă că găinile de Andaluzia cu penajul albăstrui sînt heterozigote.

## INTERACȚIUNEA GENELOR ȘI EPISTAZIA

Unul dintre factorii care determină modificarea tipului mendelian de segregare sau chiar apariția la descendenți a unor fenotipuri ce n-au existat la genitori îl constituie fenomenul de interacțiune a genelor.

Un exemplu clasic de interacțiune a genelor a fost observat de W. Bateson și R. C. Punnett la *Latthyrus odoratus,* la care prin încrucișarea a două varietăți cu flori albe s-au obținut în $F_1$ exclusiv plante cu flori roșii. În $F_2$ s-a produs segregarea în raport de 9 plante cu flori roșii la 7 albe. Aceasta înseamnă că raportul mendelian de segregare în cazul a două perechi de caractere de 9 : 3 : 3 : 1 s-a modificat în 9 : 7 datorită faptului că fenotipic clasele de indivizi 3/16 + 3/16 + + 1/16 sînt identice. Cei doi geneticieni au explicat rezultatele cercetărilor lor ca datorîndu-se faptului că culoarea roșie este determinată de prezența simultană a două gene dominante nealele complimentare *C* și *P*. Numai împreună aceste gene condiționează formarea antocianului în flori și apariția culorii roșii.

Genetic, apariția culorii roșii se explică astfel : varietățile genitoare cu flori albe se deosebesc între ele prin prezența numai a uneia din cele două dominante nealele complimentare, fiind deci *C C pp* și *cc P P*. Prin încrucișarea acestora, plantele din $F_1$ prezintă în stare heterozigotă ambele gene nealele *C c P p* și ca urmare au culoarea roșie. Prin combinarea celor două perechi de gene nealele pe baza legilor mendeliene în $F_2$ rezultă indivizi în raport de 9/16, care prezintă concomitent cele două gene nealele *C* și *P* în stare homozigotă sau heterozigotă și ca urmare au flori de culoare roșie. Toți ceilalți indivizi care reprezintă 7/16 din total au numai una dintre cele două gene dominante nealele și ca urmare prezintă flori albe. Schematic, fenomenul poate fi reprezentat astfel :

Scanned with OKEN Scanner

Genitorii $C\,C\,pp$ flori albe × $cc\,P\,P$ flori albe

$F_1$ $C\,c\,P\,p$ flori roşii

| ♀ \ ♂ | $C\,P$ | $C\,p$ | $c\,P$ | $c\,p$ |
|---|---|---|---|---|
| $C\,P$ | $C\,C\,P\,P$ roşu | $C\,C\,Pp$ roşu | $C\,c\,P\,P$ roşu | $C\,c\,P\,p$ roşu |
| $C\,p$ | $C\,C\,P\,p$ roşu | $C\,C\,p\,p$ alb | $C\,c\,P\,p$ roşu | $C\,c\,p\,p$ alb |
| $c\,P$ | $C\,c\,P\,P$ roşu | $C\,c\,P\,p$ roşu | $c\,c\,P\,P$ alb | $c\,c\,P\,p$ alb |
| $c\,p$ | $C\,c\,P\,p$ roşu | $C\,c\,p\,p$ alb | $c\,c\,P\,p$ alb | $c\,c\,p\,p$ alb |

$F_2$ Segregare 9 roşu : 7 alb

Din punct de vedere biochimic, fenomenul de interacţiune a genelor în cazul expus mai înainte se poate explica astfel : culoarea florilor este influenţată de prezenţa unor pigmenţi din grupul antocianului şi a unor copigmenţi din grupul antoxantinei. Pe lîngă aceasta există două gene dominante *C* şi *P*, care controlează diferite etape din lanţul proceselor biochimice ce determină apariţia culorii roşii. Culoarea florilor este determinată biochimic de prezenţa sau absenţa pigmenţilor şi a copigmenţilor, de gradul de oxidare sau de reducere a lor, de pH-ul acid sau bazic al mediului şi de poziţia unor grupe metilice. Absenţa oricăreia din cele două gene dominante *C* şi *P* are ca rezultat blocarea lanţului proceselor biochimice care duc la apariţia culorii şi ca urmare florile rămîn albe.

Datorită fenomenului de interacţiune a genelor pot apărea în $F_2$ şi alte tipuri de segregare. Astfel *G. H. Shull* a încrucişat două varietăţi ale unei specii de *Capsella bursa pastoris*, care se deosebesc între cle prin tipul capsulei : o varietate are capsula de forma unei piramide triunghiulare, iar cealaltă are capsula sferică şi cu un vîrf ascuţit.

În $F_1$ toate plantele au capsule triunghiulare, iar în $F_2$ segregarea se produce în raport de 15 plante cu capsule triunghiulare la 1 plantă cu capsule sferice. Pentru a explica acest tip de segregare de 15 : 1,

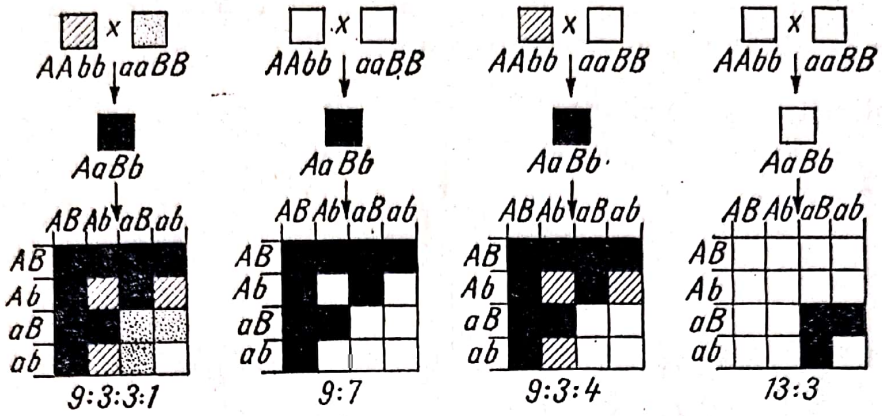



Fig. 9. Diferite tipuri de segregare în cazul a două perechi de gene nealele.

G. H. Shull consideră că forma triunghiulară a capsulei este determinată de prezența a una sau două gene dominante nealele *A* și *B*, iar forma sferică este determinată de prezența simultană a genelor recesive corespunzătoare (*a* și *b*) în stare homozigotă. Ca urmare, prin încrucișarea între varietatea cu capsule triunghiulare *(A A B B)* cu varietatea cu capsule sferice *(a a b b)* în $F_1$ plantele au capsule triunghiulare, fiind *A a B b*; iar în $F_2$ numai 1/16 au capsule sferice *(a a b b)*, iar restul 15/16, avînd cel puțin o genă dominantă, au capsule triunghiulare. Deci se poate conchide că forma sferică a capsulei este determinată de interacțiunea celor două gene recesive *(a* și *b)* în stare homozigotă.

*Fenomenul de epistazie, prin care se înțelege faptul că două gene nealele afectează un același caracter, prezența uneia împiedicînd sau acoperind expresia celeilalte, determină, de asemenea, modificarea raportului de segregare în $F_2$ și apariția de fenotipuri care n-au existat la genitori.*

Un exemplu bine cunoscut de epistazie s-a observat la încrucișarea între două rase de găini de culoare albă : *Leghorn* și *Wyandotte*. La rasa Leghorn, culoarea albă a penajului este dominantă în cazul încrucișării cu o rasă cu penaj colorat (negru, pestriț etc.). Dimpotrivă, la rasa Wyandotte culoarea albă a penajului este recesivă la încrucișarea cu o rasă cu penaj colorat. De aici s-a tras concluzia că penajul alb la cele două rase este determinat de gene diferite nealele. Aceasta înseamnă că două genotipuri diferite se manifestă sub același fenotip.

Pentru a explica de ce penajul alb de la Leghorn este un caracter dominant, se consideră că această rasă la origine este genetic colorată *(C C)*, însă că expresia culorii nu este posibilă din cauza unei alte gene inhibitoare *(I I)*. Ca urmare, rasa Leghorn poate fi considerată genetic *C C I I*, iar celelalte rase albe (Wyandotte, White Plymouth Rock etc.) sînt *c c i i*.

Efectuîndu-se încrucișări între două rase de găini albe, genetic diferite, s-au obținut următoarele rezultatele :

Genitorii Leghorn *C C I I* (albă) x Wyandotte *c c i i* (albă)

$F_1$ *C c I i* albă

$F_2$

| ♀ \ ♂ | *C I* | *C i* | *c I* | *c i* |
|---|---|---|---|---|
| *C I* | *C C I I* alb | *C C I i* alb | *C c I I* alb | *C c I i* alb |
| *C i* | *C C I i* alb | *C C i i* colorat | *C c I i* alb | *C c i i* colorat |
| *c I* | *C c I I* alb | *C c I i* alb | *c c I I* alb | *c c I i* alb |
| *c i* | *C c I i* alb | *C c i i* colorat | *c c I i* alb | *c c i i* alb |

Segregare 13 alb : 3 colorat

După cum se poate observa în $F_2$ au apărut indivizi cu penaj colorat în raport de 3/16 în cazul cînd gena inhibitoare se afla în stare homozigotă *(i i)*, iar gena ce determină culoarea se afla în stare dominantă homozigotă sau heterozigotă *(C C* sau *C c)*. Gena *I* care împiedică sau acoperă expresia genei *C* se cheamă *epistatică,* iar gena acoperită se cheamă *hipostatică.* Se poate astfel ușor remarca că penajul colorat apare numai ca un rezultat al interacțiunii celor două gene nealele.

Un exemplu foarte interesant de interacțiunea genelor care nu determină modificarea raportului mendelian de segregare, ci numai apariția unor fenotipuri noi, deosebite de ale genitorilor, a fost observat de W. Bateson și R. C. Punnett la încrucișarea între rase de găini cu tipuri diferite de creastă. După cum se știe, acest caracter este ereditar și este determinat de două gene nealele *R* și *P*. În incrucișări s-au folosit trei rase diferite după tipul crestei, și anume : rasa Leghorn, cu creasta de tip „simplu", caracter dominant *(r r P P)*, rasa Brahmas, cu creasta de tip „mazăre", caracter dominant *(r r P P)* asupra tipului simplu, și rasa Wyandotte, cu creasta de tip „trandafir", caracter, de asemenea, dominant *(R R p p)* asupra tipului simplu.

Din încrucișarea raselor Wyandotte și Brahmas cu creasta de tip dominant, caractere determinate însă de gene diferite, rezultă în $F_1$ un

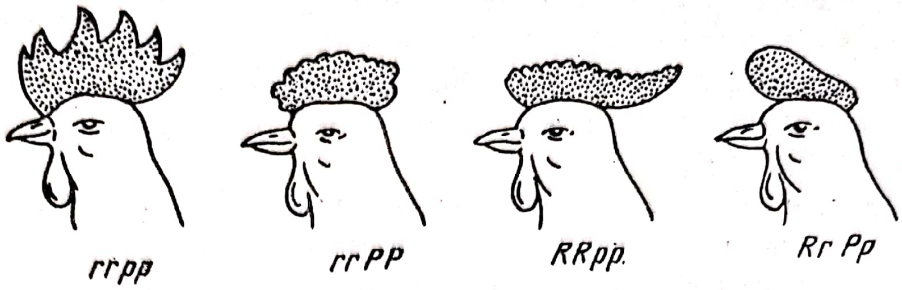



Fig. 10. Cele patru tipuri de creastă la găini : simplă *(r r p p)*, mazăre *(r r P P)*, trandafir *(R R p p)* și nucă *(R r P p)*

tip nou de creastă în formă de „nucă" *(R r P p)*, iar în $F_2$ se produce segregarea în raport de :

9/16 indivizi cu creasta în formă de „nucă" (N)
3/16 indivizi cu creasta în formă de „trandafir" (T)
3/16 indivizi cu creasta în formă de „mazăre" (M)
1/16 indivizi cu creasta simplă (S)

Iată cum se realizează această combinare a caracterelor și segregarea în $F_2$ :

| ♀ \ ♂ | *R P* | *R p* | *r P* | *r p* |
|---|---|---|---|---|
| *R P* | *R R P P* N | *R R P p* N | *R r P P* N | *R r P p* N |
| *R p* | *R R P p* N | *R R p p* T | *R r P p* N | *R r p p* T |
| *r P* | *R r P P* N | *R r P p* N | *r r P P* M | *r r P p* M |
| *r p* | *R r P p* N | *R r p p* T | *r r P p* M | *r r p p* S |

$F_2$ Segregare 9 N : 3 T : 3 M : 1 S.

Din aceste cercetări reiese că din interacțiunea celor două gene dominante *R* și *P* apare un tip nou de creastă, deosebit de al genitorilor, și anume tipul „nucă", iar din interacțiunea celor două gene în stare recesivă *r* și *p* apare tipul „simplu".

În sfîrșit *există cazuri cînd un anume caracter, cum este, de pildă, culoarea blănii și a ochilor la animalele rozătoare, este influențată de un complex de gene.* Dintre acestea, cele mai importante sînt următoarele :

— genele *C* și *c* condiționează prezența sau respectiv absența pigmentului. Ca urmare, animalele *c c* sînt de tip albinos, adică complet lipsite de melanină sau feomelanină. Melanina este un pigment care determină culoarea neagră sau brun-închisă, în timp ce feomelanina determină culoarea galbenă ;

— genele *A* și *a* influențează combinația pigmenților în blana animalelor. Pentru apariția tipului sălbatic sau „agouti", la care blana are 2 culori, negru și galben sau brun, este necesară prezența genei *A*. Această genă în stare recesivă homozigotă *a a* condiționează apariția blănii cu o singură culoare (non agouti) ;

— genele *B* și *b* condiționează apariția culorii negre și respectiv brune. Deci, în prezența genei *B*, culoarea blănii este neagră, iar în prezența genei recesive homozigote *b b* culoarea este brună ;

— genele *D* și *d* condiționează intensitatea culorii blănii. În cazul genei în stare recesivă homozigotă *d d*, culoarea generală a blănii este diluată ;

— genele *P* și *p* influențează prezența pigmentului în ochi. De aici rezultă că animalele la care e prezentă gena *P* au ochii negri, iar la cele la care e prezentă gena în stare recesivă homozigotă *p p*, ochii au culoarea roșie ;

— genele *S* și *s* controlează distribuția regională a pigmentului în blana animalelor. În prezența genei în stare recesivă homozigotă *s s* animalele prezintă blana pătată.

Denumirile celor șase gene ce interacționează în determinarea culorii blănii și a ochilor animalelor provin de la cuvintele corespunzătoare din limba engleză : C = color (culoare), A = agouti, B = black (negru), D = dilute (diluat), P = pink (roșu), S = spot (pată). Tipul agouti de blană prin care este desemnat în general animalul sălbatic provine de la numele unui rozător (agouti) de mărimea unui iepure, din familia cobaiului, originar din America tropicală.

Trebuie, de asemenea, arătat că aceste șase gene nealele, precum și altele pe care nu le mai citățm și care influențează culoarea blănii animalelor, se întîlnesc nu numai la rozătoare (șoarece, șobolan, cobai, hamster, iepure etc.), ci și la alte animale, cum sînt ciinele, calul etc., care prezintă însă anumite particularități. Datorită interacțiunii acestor gene nealele se produc fenotipuri variate și o segregare care diferă de tipul clasic descris de *G. Mendel*.

Astfel, dacă ne referim numai la primele două perechi de gene nealele *C c*, *A a*, prin încrucișarea unui animal cu blana neagră *(C C a a)* cu un animal albinos *(c c A A)* apar în $F_1$ animale cu un fenotip diferit

de al genitorilor, și anume „sălbatic" (*C c A a*). Dacă aceste animale heterozigote se încrucișează între ele, se obține în $F_2$ o segregare de tipul următor : 9/16 sălbatic, 3/16 negru și 4/16 albinos, conform cu schema de mai jos :

| ♀ \ ♂ | *C A* | *C a* | *c A* | *c a* |
|---|---|---|---|---|
| *C A* | *C C A A* sălbatic | *C C A a* sălbatic | *C c A A* sălbatic | *C c A a* sălbatic |
| *C a* | *C C A a* sălbatic | *C C a a* negru | *C c A a* sălbatic | *C c a a* negru |
| *c A* | *C c A A* sălbatic | *C c A a* sălbatic | *c c A A* albinos | *c c A a* albinos |
| *c a* | *C c A a* sălbatic | *C c a a* negru | *c c A a* albinos | *c c a a* albinos |

De asemenea, dacă se iau în considerare trei perechi de gene nealele *C c*, *A a*, *B b*, prin interacțiunea genelor are loc o modificare a raportului clasic mendelian de segregare. De pildă, prin încrucișarea unui animal cu blana brună (*C C a a b b*) cu un animal albinos (*c c A A B B*) se obțin în $F_1$ numai animale de tip sălbatic (agouti), heterozigote *C c A a B b*, prin a căror împerechere se produce în $F_2$ o segregare astfel :

27/64 indivizi de tip sălbatic (agouti) și care genetic sînt *C*/-, *A*/-, *B*/-

9/64 indivizi cu blana neagră (*C*/-, *a a*, *B*/-) ;

9/64 indivizi cu blana brunie și cu o bandă subapicală galbenă (*C*/-, *A*/-, *b b*) ;

3/64 indivizi cu blana brună uniform (*C*/-,*a a*, *b b*) ;

16/64 indivizi albinos (*c c*).

Acest tip de segregare în cazul a trei perechi de gene nealele 27 : 9 : 9 : 3 : 16 diferă considerabil de tipul mendelian 27 : 9 : 9 : 9 : 3 : 3 : : 3 : 1. Este interesant faptul că prin interacțiunea genelor în cazul a două sau trei perechi de gene nealele reapare tipul sălbatic datorită recombinării genei *C* care determină prezența pigmentației cu gena *A* ce condiționează combinarea culorilor. Ca urmare are loc fenomenul de *reversie* sau *atavism*, observat încă de Charles Darwin la *Columba livia*, și prin care din încrucișarea unor indivizi diferiți reapare tipul sălbatic ancestral, care nu s-a manifestat în cursul a multe generații.

Scanned with OKEN Scanner

## POLIALELIE, PSEUDOALELIE ŞI PLEIOTROPIE

Genele sau factorii ereditari se prezintă de obicei sub formă de pereche de alele ce determină caractere constante. Aceasta înseamnă că într-un trecut mai mult sau mai puţin îndepărtat s-a produs o mutaţie a tipului sălbatic prin care gena respectivă s-a transformat în alela sa corespunzătoare şi astfel a devenit posibilă identificarea ei.

Genele alele sînt plasate într-un anumit locus pe cromozomii pereche, pe fiecare cromozom neputînd exista decît una dintre genele alele. Ca urmare, la organismele diploide homozigote există numai una dintre alele sub formă de pereche *(A A* sau *a a),* iar la cele heterozigote există ambele gene alele *(A a)* pe cromozomi diferiţi ai aceleiaşi perechi. Pentru identificarea genelor alele se fac încrucişări între organisme homozigote pentru a se determina dacă genele alele segregă în gameţi diferiţi şi dacă organismele heterozigote prezintă fenotipul numai al unuia dintre genitori sau fenotip intermediar între genitori. În generaţia a doua, segregarea se produce în raport de 3 : 1 sau 1 : 2 : 1.

La organismele haploide, cum este, de pildă, ciuperca *Neurospora crassa,* segregarea în urma încrucişării între două tulpini diferite, dar care conţin o anumită pereche de alele, se va produce în raport de 1 : 1, deoarece fiecare tulpină iniţială conţine numai una dintre genele alele *(A* sau *a).*

Pe lîngă tipul descris mai sus de gene alele sau pereche (*A* şi *a*), *există în unele cazuri mai mult de două gene plasate în acelaşi locus pe cromozomi şi care determină variaţii ale aceluiaşi caracter. Fenomenul se cheamă polialelie şi este provocat de mutaţii consecutive ale unei gene dintr-un anumit locus.* De pildă, dacă tipul sălbatic este notat cu *A,* prin mutaţii succesive pot apărea o serie de alele ce se notează cu $a_1$, $a_2$, $a_3$ ... $a_n$ şi care afectează toate acelaşi caracter. Gena ce determină tipul sălbatic mai poate fi notată cu prima sau cu primele litere ale caracterului respectiv cu semnul plus ($a^+$), iar genele alele ale sale se notează cu aceeaşi literă, la care se schimbă indicele ($a^a$, $a^b$, $a^c$, $a^d$ etc.).

*Fenomenul de polialelie trebuie deosebit de cel de poligenie prin care se înţeleg gene nealele, plasate în loci diferiţi pe cromozomi, dar care au efect cumulativ, adică influenţează acelaşi caracter.*

Un exemplu clasic de polialelie a fost observat de *T. Morgan* la *Drosophila melanogaster,* la care tipului normal cu ochii de culoare roşie ($w^+$) îi corespund 10 gene alele care determină o culoare diferită a ochilor, şi anume :

| | | | |
|---|---|---|---|
| $w^{co}$ | — corai (coral) | $w^i$ | — ivoar (ivory) |
| $w^b$ | — purpuriu (blood) | $w^t$ | — galben-roşu (tinged) |
| $w^c$ | — cireşiu (cherry) | $w^{bf}$ | — galben-roz (buff) |
| $w^a$ | — culoarea caisei (apricot) | $w^{ec}$ | — ecru (ecru) |
| $w^e$ | — eosin (eosin) | $w$ | — alb (white) |

Toate aceste gene alcătuiesc *o serie alelomorfă,* în care roşul este culoarea dominantă şi albul cea recesivă. Mutaţiile intermediare sînt

recesive față de roșu și dominante față de alb ; între ele însă dominante sînt cele mai puternic colorate, iar recesive cele mai slab colorate. Aceste gene alelomorfe sînt plasate în același locus pe cromozomul I de la *Drosophila melanogaster*.

Un alt exemplu de serie alelă la *Drosophila* este cel referitor la tipul aripilor. Între insectele cu aripi normale ($vg^+$) și cele lipsite complet de aripi ($vg$) există o seamă de tipuri intermediare, care au aripi dezvoltate parțial (crestate — $vg^{n\,i}$, tăiate — $vg^{no}$, scobite — $vg^{st}$)

La mamiferele rozătoare s-a descoperit că există o serie de gene alele legate de culoarea albinos a blănii. Astfel, pe lîngă tipul albinos ($c\ c$) complet lipsit de pigmentație, există animale de tip himalaian ($c^h\ c^h$) care sînt albe, dar au extremitățile corpului colorate (labele, coada, urechile și botul), există animale de tip chinchilla ($c^{ch}\ c^{ch}$) care au o culoare gri, datorită amestecului între culoarea albă de la albinos și negru de la tipul sălbatic (agouti). Prin încrucișarea tipului sălbatic colorat ($C\ C$) cu oricare dintre aceste tipuri din seria albinos, în $F_1$ animalele sînt toate colorate, iar în $F_2$ se produce segregarea 3 colorat : 1 din seria albinos. Aceasta demonstrează că toate cele patru gene ($C$, $c^{ch}$, $c^h$, $c$ ) alcătuiesc o serie alelomorfă.

S-a cercetat, de asemenea, care este ordinea de dominanță între aceste gene și s-a constatat că întotdeauna culoarea mai închisă domină asupra celei mai deschise: $C \rightarrow c^{ch} \rightarrow c^h \rightarrow c$. Deci prin încrucișare între tipul chinchilla și cel himalaian sau cel albinos, tipul chinchilla este dominant, segregarea avînd loc în $F_2$ în proporție de 3 : 1. La fel, prin încrucișarea între tipul himalaian și cel albinos, primul este dominant.

Pe această bază se poate conchide că animalele cu un anumit fenotip pot să aibă următoarele genotipuri :

| Fenotipuri | Genotipuri |
|---|---|
| colorat | $C\ C$, $C\ c^{ch}$, $C\ c^h$, $C\ c$ |
| chinchilla | $c^{ch}\ c^{ch}$, $c^{ch}\ c^h$, $c^{ch}\ c$ |
| himalaian | $c^h\ c^h$, $c^h\ c$ |
| albinos | $c\ c$ |

În mod similar s-a descoperit o serie alelă pentru tipul sălbatic (agouti). În cadrul acestei serii, tipul sălbatic ($A\ A$) este recesiv față de tipul cu culoare galbenă ($A^y\ A^y$) și față de cel sălbatic cu pîntecele alb ($A^w\ A^w$), dar este dominant față de cel negru cu pîntecele roșiatic ($a^t\ a^t$) și față de cel negru (non-agouti, $a\ a$). Deci ordinea de dominanță a celor 5 gene alele este următoarea : $A^y \rightarrow A^w \rightarrow A \rightarrow a^t \rightarrow a$. Spre deosebire de seria alelă anterioară albinos, în cazul seriei pentru tipul sălbatic (agouti) există mutante, cum sînt $A^y$ și $A^w$, ce domină asupra tipului sălbatic.

Scanned with OKEN Scanner

*În unele cazuri fenomenul de polialelism determină apariția mozaicismului, adică a unor organisme ce prezintă caractere diferite în diferite părți ale corpului.* Un exemplu clasic este cel al seriei polialele ce afectează culoarea la plantele de porumb și care sînt plasate în locusul *R* de pe cromozomul 10. Seria genelor polialele este următoarea :

$R^r\ R^r$ — plante de culoare roșie, aleuronă roșie
$R^g\ R^g$ — plante de culoare verde, aleuronă roșie
$r^r\ r^r$ — plante de culoare roșie, aleuronă necolorată
$r^g\ r^g$ — plante de culoare verde, aleuronă necolorată

Genele care determină culoarea roșie a plantelor sau a aleuronei semințelor sînt dominante asupra celor care determină culoarea verde a plantelor și necolorarea aleuronei.

Un exemplu deosebit de interesant de polialelie a fost remarcat la om în ce privește grupele de sînge. După cum se știe, încă în 1900 K. Landsteiner a remarcat că prin amestecarea globulelor roșii ale sîngelui de la o persoană cu serul sîngelui de la o alta în unele cazuri se observă fenomenul de aglutinare, iar în altele nu. Pe baza a numeroase cercetări s-a ajuns la concluzia că oamenii aparțin la patru grupe de sînge, A, B, A B și O. S-a descoperit că la oameni există două tipuri de anticorpi, A și B, în serul sîngelui și două tipuri de antigeni, A și B, în globulele roșii. Indivizii din grupa de sînge A posedă antigeni A și anticorpi B, cei din grupa B posedă antigeni B și anticorpi A, cei din grupa A B posedă antigeni A și B, dar nu posedă anticorpi, iar indivizi din grupa O nu posedă antigeni, dar posedă ambele tipuri de anticorpi, A și B.

Aglutinarea sau coagularea sîngelui se produce atunci cînd reacționează antigeni A cu anticorpi A sau antigeni B cu anticorpi B.

Pentru a efectua transfuzii de sînge și a evita accidentele datorită aglutinării trebuie cunoscute grupele de sînge ale donatorului și recep-

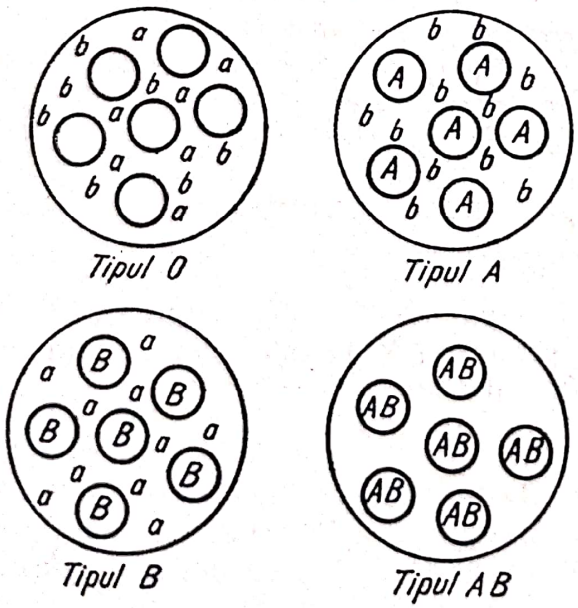
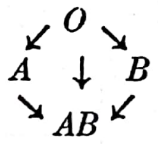



Fig. 11. Reprezentarea grafică a celor patru grupe de sînge în care antigenii sînt notați cu litere mari și anticorpii cu litere mici.

torului. Astfel, indivizii din grupa A nu pot primi sînge de la cei din grupa B care posedă anticorpi A și invers. Indivizii din grupa A B sînt receptori universali, deoarece neposedînd anticorpi, pot primi orice tip de globule roșii. În sfîrșit, indivizii din grupa O posedînd ambele tipuri de anticorpi nu pot primi sînge decît de la tipul respectiv O. În schimb, indivizii din grupa O sînt donatori universali, deoarece globulele lor roșii nu conțin nici un fel de antigeni. Bineînțeles că întotdeauna se pot face transfuzii de sînge în cadrul aceluiași grup.

Trebuie însă arătat că în transfuziile de sînge, o dată cu globulele roșii se introduce și o mică cantitate din serul sanguin al donatorului. Ca urmare, cînd se face transfuzie de sînge de la un donator cu alt grup de sînge decît al receptorului, chiar dacă ele sînt compatibile, se observă o aglutinare redusă. De aceea noțiunile de „donator universal" și „receptor universal" nu sînt perfect corecte. Totuși cu măsuri speciale de precauție se pot face transfuzii și de la indivizi cu alte grupe sanguine, după schema următoare :




S-a constatat că cele patru grupe de sînge sînt ereditare și ele se datoresc a trei gene alele plasate în același locus, notate astfel : (după numele descoperitorului fenomenului) : $L^A$ pentru antigenii *A*, $L^B$ pentru antigenii *B* și *l* pentru gena alelă recesivă. Ca urmare, indivizii pot avea următoarele genotipuri :

| Fenotipuri | Genotipuri |
|---|---|
| A | $L^A\ L^A$ sau $L^A\ l$ |
| B | $L^B\ L^B$ sau $L^B\ l$ |
| A B | $L^A\ L^B$ |
| O | $l\ l$ |

Genele $L^A$ și $L^B$ sînt co-dominante deoarece întotdeauna ele domină asupra genei *l*, iar împreună nici una nu manifestă dominanță, ci apariția fenotipului A B.

În sfîrșit, o ultimă problemă legată de fenomenul de polialelism în ce privește grupele sanguine se referă la modul cum se moștenesc la copii aceste grupe, problemă importantă pentru stabilirea paternității. În tabelul următor sînt prezentate fenotipurile și genotipurile părinților și fenotipurile copiilor posibile și imposibile.

Scanned with OKEN Scanner

| Părinții | | Grupele de sînge ale copiilor | |
|---|---|---|---|
| Fenotipuri | Genotipuri | Posibile | Imposibile |
| A × A | $L^A L^A \times L^A L^A$ | A | B, A B, O |
| A × A | $L^A l \times L^A l$ | A, O | B, A B |
| B × B | $L^B L^B \times L^B L^B$ | B | A, A B, O |
| B × B | $L^B l \times L^B l$ | B, O | A, A B |
| A B × A B | $L^A L^B \times L^A L^B$ | A, B, A B | O |
| O × O | $l l \times l l$ | O | A, B, A B |
| A × B | $L^A L^A \times L^B L^B$ | A B | A, B, O |
| A × B | $L^A L^A \times L^B l$ | A, A B | B, O |
| A × B | $L^A l \times L^B L^B$ | B, A B | A, O |
| A × B | $L^A l \times L^B l$ | A, B, A B, O | — |
| A × A B | $L^A L^A \times L^A L^B$ | A, A B | B, O |
| A × A B | $L^A l \times L^A L^B$ | A, B, A B | O |
| A × O | $L^A L^A \times l l$ | A | B, A B, O |
| A × O | $L^A l \times l l$ | A, O | B, A B |
| B × A B | $L^B L^B \times L^A L^B$ | B, A B | A, O |
| B × A B | $L^B l \times L^A L^B$ | A, B, A B | O |
| B × O | $L^B L^B \times l l$ | B | A, A B, O |
| B × O | $L^B l \times l l$ | B, O | A, A B |
| A B × O | $L^A L^B \times l l$ | A, B | A B, O |

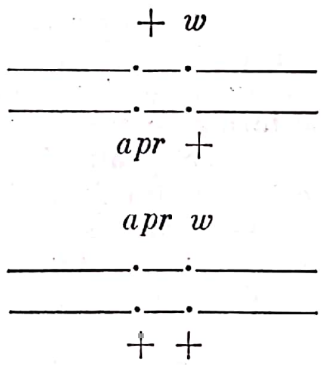
Pe baza a numeroase cercetări privind fenomenul polialeliei s-a arătat că îi sînt caracteristice următoarele particularităţi :

1. *Genele polialele sînt plasate în acelaşi locus pe cromozom.*
2. *Între genele polialele nu are loc fenomenul crossing-over.*
3. *Genele polialele afectează întotdeauna acelaşi caracter.*
4. *Prin încrucişarea între două mutante polialele nu apare tipul sălbatic, ci unul dintre genitori care este dominant.*
5. *De obicei tipul sălbatic este dominant, iar genele alele corespunzătoare sînt recesive.* De la acest fenomen sînt însă şi excepţii, ca, de pildă, seria de gene polialele ce afectează culoarea blănii la animale de tip agouti *(A)*.

Scanned with OKEN Scanner

*În cazul cînd una sau mai multe caracteristici ale fenomenului de polialelie lipsesc, genele respective sînt pseudoalele sau alele false.* Pentru a explica pseudoalelia, se consideră că genele respective sînt plasate în *loci complecși*, foarte aproape una de alta, încît de obicei se transmit împreună, însă uneori are loc o recombinare a lor cu o frecvență foarte mică, adică apare fenomenul crossing-over.

Un exemplu de gene pseudoalele a fost descoperit pe cromozomul I la *Drosophila melanogaster* în ce privește culoarea ochilor. Pe baza unor prime cercetări s-a tras concluzia că gena ce determină culoarea albă a ochilor *(w)* face parte dintr-un grup de gene polialele în care intră și gena ce determină ochi de culoarea caisei *($w^a$)*. Ulterior însă, efectuîndu-se cercetări pe o scară mult mai largă, s-a descoperit că din încrucișarea celor 2 tipuri de indivizi, $w\ w \times w^a\ w^a$, apar în descendență cu o frecvență foarte mică și indivizii de tip sălbatic *($w^+$)* cu ochi roșii. De aici s-a tras concluzia că este de fapt vorba de un locus compus, iar distanța între cele două gene este foarte mică, fiind de numai 0,03. Ca urmare s-a schimbat denumirea genei $w^a$ în *apr.* (de la apricot = caisă). Cînd cele două gene *(apr* și *w)* sînt plasate diferit pe cei doi cromozomi pereche (poziția trans), culoarea ochilor indivizilor respectivi este cea a caisei (gena *apr* este dominantă asupra genei *w*). Dacă însă are loc o recombinare genetică, adică crossing-over, între cele două gene și ele sînt plasate împreună pe același cromozom din perechea respectivă (poziția cis), indivizii vor avea ochi roșii de tip sălbatic, genele pentru acest tip (+ +) fiind plasate, de asemenea, împreună. Schematic cele două poziții ale genelor pot fi prezentate astfel :




Exemplul acesta demonstrează că *fenotipul poate fi determinat nu numai de prezența anumitor alele, adică de genotip, ci și de poziția pe care o au genele pe cromozomi. Fenomenul acesta a primit denumirea de efect de poziție.* Pentru ca reacțiile biochimice care duc la apariția culorii roșii normale a ochilor să aibă loc este necesar ca cele două gene *(apr* și *w)* să fie plasate pe același cromozom alăturat în poziția cis. Transferul uneia dintre gene pe cromozomul pereche în poziția trans blochează relațiile biochimice și duc la apariția unei alte culori a ochilor. *Prin testul cis trans se poate determina dacă două gene diferite sînt alele sau nu, iar cistronul este unitatea funcțională al cărui nume vine tocmai de la acest test.* Se poate conchide că în cazul nostru cele 2 gene aparțin la

același cistron, deoarece în poziția cis, adică atunci cînd sînt alăturate pe același cromozom ele sînt complementare, restabilind funcția normală a organismului, respectiv culoarea roșie a ochilor. Fiecare cistron ca unitate funcțională este responsabil de sinteza unei anumite proteine.

*În timp ce în cazul polialeliei mai multe gene plasate în același locus contribuie la realizarea unui anumit caracter* (culoarea ochilor la *Drosophila,* culoarea blănii la animale etc.) *există și fenomenul opus denumit pleiotropie prin care o anumită genă determină modificarea mai multor caractere.*

Ca exemplu de pleiotropie poate fi citat cazul mutantei cu aripi vestigiale de la *Drosophila,* la care gena *vg* determină modificarea și a altor caractere : a perișorilor de pe partea dorsală, a spermatecii, reducerea fecundității și vitalității etc. În mod similar gena recesivă *c* ce determină în stare homozigotă apariția tipului albinos la animale, este o genă pleiotropică, ea determinînd o vitalitate mai redusă a animalelor respective, fapt pentru care în stare naturală albinismul este relativ rar.

În prezent se consideră că marea majoritate a genelor sînt pleiotrope, deși în relativ puține cazuri este cunoscut efectul multilateral al unei anumite gene.

## FENOMENUL DE POLIGENIE (POLIMERIE)

Încă în secolul al XVIII-lea J. Kölreuter a remarcat că prin încrucișarea unor varietăți de tutun pitic cu varietăți înalte, în $F_1$ se obțin hibrizi care au o înălțime intermediară între genitori, iar în $F_2$ are loc o segregare care duce la apariția unor forme ce prezintă o gradație continuă a înălțimii, de la tipul pitic pînă la cel înalt. Astfel de fenomene au fost observate ulterior de numeroși experimentatori, însă numai în primele decenii ale secolului al XX-lea s-a reușit să se dea o explicație genetică fenomenului de moștenire a caracterelor cantitative (înălțimea, greutatea, producția de fructe sau semințe, producția de ouă sau de lapte etc.).

Cercetările lui H. Nilsson-Ehle în Suedia la grîu și ale lui E. M. East în Statele Unite la porumb în perioada 1910—1913 au dus la descoperirea fenomenului de *poligenie,* prin care se explică modul de segregare al caracterelor cantitative. Pe baza acestor cercetări s-a ajuns la concluzia că : *caracterele cantitative sînt determinate de mai multe gene nealele (poligene) care segregă independent, dar care influențează același caracter avînd efect cumulativ.* Ca urmare se obține o segregare diferită de cea clasică observată de G. Mendel.

H. Nilsson-Ehle a încrucișat soiuri de grîu cu bobul „roșu" cu soiuri cu bobul „alb" și în $F_1$ a obținut hibrizi cu boabe „roșu-deschis". În $F_2$ s-a obținut o segregare diferită în funcție de soiurile folosite. Astfel, în cazul a 2 perechi de gene cu efect cumulativ s-a remarcat

o segregare de 15 roşu de diferite nuanţe la 1 alb. Dacă cele 2 perechi de gene se notează astfel $R_1$ $r_1$ şi $R_2$ $r_2$, genitorii vor fi : $R_1$ $R_1$ $R_2$ $R_2$ (bob roşu) × $r_1$ $r_1$ $r_2$ $r_2$ (bob alb). Hibrizii din $F_1$ cu boabe de culoare roşie-deschisă sînt : $R_1$ $r_1$ $R_2$ $r_2$, iar prin segregarea lor se obţine în $F_2$ următorul tablou :

| ♀ \ ♂ | $R_1$ $R_2$ | $R_1$ $r_2$ | $r_1$ $R_2$ | $r_1$ $r_2$ |
|---|---|---|---|---|
| $R_1$ $R_2$ | $R_1$ $R_1$ $R_2$ $R_2$ roşu | $R_1$ $R_1$ $R_2$ $r_2$ | $R_1$ $r_1$ $R_2$ $R_2$ | $R_1$ $r_1$ $R_2$ $r_2$ |
| $R_1$ $r_2$ | $R_1$ $R_1$ $R_2$ $r_2$ | $R_1$ $R_1$ $r_2$ $r_2$ | $R_1$ $r_1$ $R_2$ $r_2$ | $R_1$ $r_1$ $r_2$ $r_2$ |
| $r_1$ $R_2$ | $R_1$ $r_1$ $R_2$ $R_2$ | $R_1$ $r_1$ $R_2$ $r_2$ | $r_1$ $r_1$ $R_2$ $R_2$ | $r_1$ $r_1$ $R_2$ $r_2$ |
| $r_1$ $r_2$ | $R_1$ $r_1$ $R_2$ $r_2$ | $R_1$ $r_1$ $r_2$ $r_2$ | $r_1$ $r_1$ $R_2$ $r_2$ | $r_1$ $r_1$ $r_2$ $r_2$ alb |

Din datele tabloului reiese că segregarea se produce astfel :

1/16 $R_1$ $R_1$ $R_2$ $R_2$ — indivizi cu boabe roşii de tipul unui genitor.

4/16 $R$ $R$ $R$ $r$
6/16 $R$ $R$ $r$ $r$
4/16 $R$ $r$ $r$ $r$
} indivizi cu boabe roz, intermediare între genitori.

1/16 $r_1$ $r_1$ $r_2$ $r_2$ — indivizi cu boabe albe de tipul celuilalt genitor.

Efectul acestor gene este aditiv sau cumulativ, în sensul că prezenţa genelor $R_1$ şi $R_2$ determină culoarea roşie, iar a alelelor corespunzătoare $r_1$ şi $r_2$ în stare homozigotă culoarea albă.

Prin încrucişarea altor soiuri de grîu cu bobul roşu şi alb s-a obţinut în $F_2$ o segregare în raport de 63 roşu de diferite nuanţe la 1 alb, fapt care indică prezenţa a trei perechi de gene nealele cu efect cumulativ.

E. M. East a studiat modul de segregare la încrucişarea între varietăţi de porumb cu boabe galbene ($Y_1$ $Y_1$ $Y_2$ $Y_2$) şi boabe albe ($y_1$ $y_1$ $y_2$ $y_2$), constatînd că în $F_1$ plantele heterozigote ($Y_1$ $y_1$ $Y_2$ $y_2$) au boabe galbene, iar în $F_2$ se produce segregarea 15 galben : 1 alb. Această segregare se datoreşte efectului cumulativ în ce priveşte culoarea boabelor a celor 2 perechi de gene nealele $Y_1$ $y_1$ şi $Y_2$ $y_2$.

Un alt exemplu de efect cumulativ al genelor în moştenirea unor caractere cantitative îl constituie ereditatea culorii pielii la om. C. B. Davenport a studiat pe larg problema eredităţii culorii pielii la om, în special în Jamaica şi Insulele Bermude unde frecvenţa căsă-



18—50—65

Scanned with OKEN Scanner

toriilor între rase diferite este foarte mare. Culoarea pielii este determinată de pigmentul *melanină*, care variază cantitativ la rase diferite :

| Melanină în % | Fenotipul |
|---|---|
| 0 — 11 | alb |
| 12 — 25 | mulatru-deschis |
| 26 — 40 | mulatru |
| 41 — 55 | mulatru-închis |
| 56 — 78 | negru |

Pentru a explica faptul că $F_1$ este relativ uniformă și este alcătuită din mulatri cu o culoare a pielii intermediară și că prin căsătoria între mulatri se obține în $F_2$ o segregare în proporție de :

1 alb
4 mulatri-deschis
6 mulatri
4 mulatri-închis
1 negru

Davenport a considerat că în apariția culorii pielii sînt implicate 2 perechi de gene alele $P_1$ $p_1$ și $P_2$ $p_2$.

Din căsătoria între negri ($P_1$ $P_1$ $P_2$ $P_2$) și albi ($p_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$) rezultă în $F_1$ mulatri propriu-zis ($P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$), iar din căsătoria între mulatri, $F_2$ se prezintă astfel :

| ♀ \ ♂ | $P_1$ $P_2$ | $P_1$ $p_2$ | $p_1$ $P_2$ | $p_1$ $p_2$ |
|---|---|---|---|---|
| $P_1$ $P_2$ | $P_1$ $P_1$ $P_2$ $P_2$ negru | $P_1$ $P_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru-închis | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $P_2$ mulatru-închis | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru |
| $P_1$ $p_2$ | $P_1$ $P_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru-închis | $P_1$ $P_1$ $p_2$ $p_2$ mulatru | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru | $P_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$ mulatru-deschis |
| $p_1$ $P_2$ | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $P_2$ mulatru-închis | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru | $p_1$ $p_1$ $P_2$ $P_2$ mulatru | $p_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru-deschis |
| $p_1$ $p_2$ | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru | $P_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$ mulatru-deschis | $p_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru-deschis | $p_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$ alb |

toriilor între rase diferite este foarte mare. Culoarea pielii este determinată de pigmentul *melanină*, care variază cantitativ la rase diferite :

| Melanină în % | Fenotipul |
|---|---|
| 0 — 11 | alb |
| 12 — 25 | mulatru-deschis |
| 26 — 40 | mulatru |
| 41 — 55 | mulatru-închis |
| 56 — 78 | negru |

Pentru a explica faptul că $F_1$ este relativ uniformă și este alcătuită din mulatri cu o culoare a pielii intermediară și că prin căsătoria între mulatri se obține în $F_2$ o segregare în proporție de :

1 alb
4 mulatri-deschis
6 mulatri
4 mulatri-închis
1 negru

Davenport a considerat că în apariția culorii pielii sînt implicate 2 perechi de gene alele $P_1$ $p_1$ și $P_2$ $p_2$.

Din căsătoria între negri ($P_1$ $P_1$ $P_2$ $P_2$) și albi ($p_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$) rezultă în $F_1$ mulatri propriu-zis ($P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$), iar din căsătoria între mulatri, $F_2$ se prezintă astfel :

| ♀ \ ♂ | $P_1$ $P_2$ | $P_1$ $p_2$ | $p_1$ $P_2$ | $p_1$ $p_2$ |
|---|---|---|---|---|
| $P_1$ $P_2$ | $P_1$ $P_1$ $P_2$ $P_2$ negru | $P_1$ $P_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru-închis | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $P_2$ mulatru-închis | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru |
| $P_1$ $p_2$ | $P_1$ $P_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru-închis | $P_1$ $P_1$ $p_2$ $p_2$ mulatru | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru | $P_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$ mulatru-deschis |
| $p_1$ $P_2$ | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $P_2$ mulatru-închis | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru | $p_1$ $p_1$ $P_2$ $P_2$ mulatru | $p_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru-deschis |
| $p_1$ $p_2$ | $P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru | $P_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$ mulatru-deschis | $p_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$ mulatru-deschis | $p_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$ alb |

Prin încrucișarea între mulatri ($P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$) și albi ($p_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$), adică prin backcross, rezultă descendenți care se prezintă astfel :

25% mulatri ($P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$)

25% albi ($p_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$)

50% mulatri-deschiși (intermediari între părinți $P_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$ sau $p_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$).

Din încrucișarea între mulatri ($P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$) și negri ($P_1$ $P_1$ $P_2$ $P_2$) rezultă :

25% mulatri ($P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$, $P_1$ $P_1$ $p_2$ $p_2$, $p_1$ $p_1$ $P_2$ $P_2$)

25% negri ($P_1$ $P_1$ $P_2$ $P_2$)

50% mulatri-închiși, intermediari între părinți ($P_1$ $p_1$ $P_2$ $P_2$, $P_1$ $P_1$ $P_2$ $p_2$).

Conform ipotezei lui *C. B. Davenport* cantitatea de pigment în piele este determinată de efectul cumulativ al genelor $P_1$ și $P_2$, care la negri se află în stare homozigotă ($P_1$ $P_1$ $P_2$ $P_2$), la mulatri-închiși există trei gene pentru pigmentare ($P_1$ $p_1$ $P_2$ $P_2$ sau $P_1$ $P_1$ $P_2$ $p_2$), la mulatri propriu-ziși există două gene pentru pigmentare ($P_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$, $P_1$ $P_1$ $p_2$ $p_2$, sau $p_1$ $p_1$ $P_2$ $P_2$) iar la mulatri-deschiși o singură genă pentru pigmentare ($P_1$ $p_1$ $p_2$ $p_2$ *sau* $p_1$ $p_1$ $P_2$ $p_2$).

Deși dă o explicație genetică segregării la încrucișarea între rase cu pigmentație diferită, ipoteza lui C. B. Davenport simplifică faptele, neținînd suficient seama de marea variabilitate a pigmentației fiecărei rase și de influența mediului asupra pigmentației. R. R. Gates (1953) a elaborat o altă ipoteză, conform căreia culoarea pielii la om este determinată de *3* perechi de gene nealele, iar C. Stern (1960) analizează matematic diferite ipoteze privind segregarea după culoarea pielii umane în cazul luării în considerație a 2—20 perechi de gene.

În sfîrșit, un alt exemplu clasic de poligenie îl constituie moștenirea lungimii corolei la varietățile de *Nicotiana longiflora*. Prin încrucișarea unei varietăți cu corola scurtă (40 mm în medie) cu o varietate cu corola lungă (94 mm în medie), E. M. East a obținut în prima generație plante cu corola de lungime intermediară. Deoarece n-a lucrat cu un număr prea mare de indivizi, în $F_2$ n-a reușit să obțină decît forme intermediare și de-abia în $F_5$ el a selecționat indivizi cu corole tot atît de lungi ca ale genitorilor, precum și numeroase forme intermediare. Pentru a explica acest tip de segregare, E. M. East a considerat că lungimea corolei este determinată de efectul aditiv a *6* perechi de gene, deoarece în acest caz numai 1/2048 dintre indivizi va prezenta corola la fel de lungă ca unul dintre părinți și 1/2048 corola scurtă ca celălalt genitor. Probabilitatea apariției de indivizi în urma segregării în

Scanned with OKEN Scanner

$F_2$ cu caractere identice cu ale unuia sau altuia dintre genitori este următoarea în cazul unui număr diferit de perechi de gene :

| Numărul de perechi de gene | Numărul de indivizi la fel cu unul sau altul dintre genitori |
|---|---|
| 1 | 1 : 4 |
| 2 | 1 : 16 |
| 3 | 1 : 64 |
| 4 | 1 : 256 |
| 5 | 1 : 1 024 |
| 6 | 1 : 4 096 |
| n | 1 : $4^n$ |

Cu ajutorul acestui tabel se poate calcula teoretic în cazul efectului cumulativ al genelor probabilitatea apariţiei de indivizi identici cu genitorii. În cazul experienţei privind segregarea după lungimea corolei la *N. longiflora* nu a fost posibilă selecţia de indivizi cu corola la fel ca a genitorilor decît în $F_5$, din cauză că numărul de plante hibride obţinute în primele generaţii era foarte mic. Se poate trage deci concluzia nu numai că caracterele cantitative sînt determinate genetic, dar şi că în cazul efectului cumulativ al unui număr mare de gene nealele, pentru a selecţiona indivizi asemănători cu genitorii, trebuie continuată selecţia mai multe generaţii, deoarece în $F_2$ din cauza unui număr mic de indivizi şi a unei probabilităţi reduse, nu este posibil acest lucru.

## GENE LETALE ŞI SUBLETALE

O cauză importantă a modificării raportului mendelian de segregare o constituie *genele letale care în stare homozigotă determină moartea individului respectiv*. Noţiunea de *gene letale* a fost introdusă în ştiinţă de geneticianul L. Cuénot (1911), pe baza cercetărilor sale la şoarecii de culoare galbenă. Aceştia s-au dovedit a fi întotdeauna heterozigoţi, deoarece prin încrucişarea a doi şoareci galbeni nu se obţin niciodată numai şoareci galbeni, ci un amestec cu indivizi de altă culoare. Raportul între şoarecii galbeni şi cei de altă culoare este în general de 2 : 1. Dacă se notează gena pentru culoarea normală a blănii cu $a$ şi mutanta sa care duce la apariţia blănii galbene cu $A^y$ (aceasta fiind o genă dominantă), prin încrucişarea între organisme heterozigote ar fi trebuit să se obţină raportul de 3 : 1 între indivizii cu păr galben şi cei de altă culoare.

$$A^y\ a \times A^y\ a = A^y\ A^y + 2\ A^y\ a + a\ a.$$

Dacă se ține seama că toți șoarecii galbeni sînt heterozigoți, aceasta înseamnă că tipul $A^y A^y$, adică galbeni homozigoți, lipsește. L. Cuénot a dedus de aici că gena $A^y$ este o genă letală, care în stare homozigotă duce la moartea organismului. Mai tîrziu s-a constatat, prin sacrificarea femelelor, că o parte din embrionii șoarecilor de culoare galbenă mor în acest stadiu.

Prezența unor gene letale s-a constatat și la alte organisme. La rasa engleză de taurine Dexter cu picioare scurte, prin încrucișarea Dexter × × Dexter o parte din embrioni mor, datorită unor malformații. Această rasă este heterozigotă, deoarece în descendență se obțin întotdeauna o parte din indivizi cu picioare normale. Raportul între animalele cu picioare scurte de tip Dexter și cele cu picioare normale este de 2 : 1. Pentru a evita pieirea unei părți din embrioni, se fac încrucișări între rasa Dexter și o altă rasă Kerry.

La găini este cunoscută gena dominantă letală *C*, care în stare homozigotă *(C C)* determină moartea embrionilor la 72 ore de la începutul incubației, iar în stare heterozigotă *(C c)* provoacă modificări de creștere profunde și în special apariția de indivizi cu picioare scurte și strîmbe. Prin încrucișarea a doi indivizi heterozigoți, segregarea se produce în raport de 2 indivizi anormali heterozigoți *(C c)* la 1 normal *(c c)*, din cauză că indivizii homozigoți dominanți *(C C)* pier. Din încrucișarea indivizilor anormali *(C c)* cu păsări normale *(c c)*, descendența segregă în raport de 1 normal *(c c)* : 1 anormal heterozigot *(C c)*.

La șoarece există o genă dominantă *T* care în stare homozigotă *(T T)* provoacă moartea embrionilor în a 10-a zi de dezvoltare, iar în stare heterozigotă *(T t)* determină absența cozii. De asemenea, s-a descoperit existența unei serii de gene alele plasate în același locus ($t^o$, $t^1$, $t^2$, $t^3$.....$t^n$) care în stare homozigotă duc la moartea organismelor în diferite etape ale vieții intrauterine, iar în stare heterozigotă cu gena *T* duc la apariția unui sistem de gene letale balansate ($T\ t^o$, $T\ t^1$, $T\ t^2$....$T\ t^n$), care face ca animalele să supraviețuiască, dar să fie lipsite de coadă. Toată această serie de gene alele interferează cu lanțul de procese biochimice care determină diferențierea notocordului embrionar și este corelat, de asemenea, cu organizarea sistemelor nervos, muscular și osos.

La *Drosophila melanogaster* sînt mai multe gene dominante pe cromozomul II, și anume : *Cy* (curly) ce face ca adulții să aibă aripile îndoite în sus, *L* (lobe) care determină forma lobată a ochilor și *Pm* (plum) care produce culoarea brună a ochilor, gene care în stare homozigotă sînt letale. Ca urmare, toți indivizii ce prezintă aceste trei gene sînt heterozigoți *(Cy cy, Pm pm, L l)*, iar prin încrucișarea lor toți descendenții care prezintă una sau mai multe din aceste gene în stare homozigotă pier și supraviețuiesc numai indivizii heterozigoți. Fenomenul acesta de eliminare a indivizilor cu gene letale homozigote și de păstrare a celor heterozigoți poartă numele de *sistem de gene letale balansate*.

La plante au fost identificate, de asemenea, numeroase gene letale care în stare homozigotă provoacă moartea embrionilor sau a plantelor

Scanned with OKEN Scanner

înainte de maturitate. De pildă, la porumb sînt cunoscute 15 gene diferite, care în stare homozigotă blochează formarea clorofilei și a fotosintezei, plantele de acest tip fiind lipsite de clorofilă (albinotice) și incapabile să supraviețuiască. În acest caz este vorba de *gene subletale care determină moartea organismului nu în faza de zigot sau embrion, ci mai tîrziu, înainte de maturitatea sexuală.*

Prin autopolenizarea sau încrucișarea unor plante ce conțin gena recesivă pentru albinism *(w)* în stare heterozigotă *(W w)* descendența segregă astfel : 1 *W W* : 2 *W w* : 1 *w w*. Deoarece ultima categorie de indivizi pier, segregarea plantelor are loc de fapt în raport de 1/3 *W W* : : 2/3 *W w*. Se poate astfel observa că dacă la plantele heterozigote care se încrucișează *(W w* × *W w)* frecvența genei recesive *w* este de 50% sau 1/2, la plantele primei generații (1/3 *W W* : 2/3 *W w)* frecvența genei recesive letale este de numai 33,3%, adică 1/3. S-a demonstrat experimental că prin polenizarea liberă a plantelor primei generații, în generația a doua frecvența genei recesive letale se reduce la 1/4, în generația următoare la 1/5 etc. Geneticianul C. C. Li (1955) a elaborat o formulă teoretică care exprimă matematic descreșterea progresivă a frecvenței unei gene recesive letale, din cauza faptului că indivizii homozigoți pentru gena letală pier. Această formulă este următoarea :

$$q_{n+1} = \frac{q_n}{1 + q_n}.$$

În cazul de mai sus, frecvența ($q_n$) a genei *w* a fost la genitorii heterozigoți de 1/2 și înlocuind în formulă, găsim :

$$q_{n+1} = \frac{1/2}{1 + 1/2} = \frac{1/2}{3/2} = 1/3.$$

Aceasta înseamnă că dacă frecvența la genitori ($q_n$) a genei *w* a fost 1/2, la prima generație frecvența ($q_{n+1}$) a genei *w* se va reduce la 1/3. Dacă însă frecvența unei gene recesive letale este foarte redusă, fiind de pildă de numai 1/100, aceasta înseamnă că pentru a o reduce la jumătate, adică la 1/200, sînt necesare 100 de generații.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL IV

# BAZELE CELULARE ALE EREDITĂȚII

## CELULA ȘI EREDITATEA

Ereditatea este o însușire fundamentală a materiei vii. Dar materia vie este organizată sub formă de celule atît la organismele mai simple unicelulare, cum sînt, de pildă, bacteriile cît și la plantele sau animalele superioare. Numai virusurile nu au o organizare celulară.

Teoria celulară elaborată de botanistul M. J. Schleiden și de zoologul T. Schwann (1838) și completată de R. Virchow (1855) a constituit una dintre cele mai importante realizări ale secolului al XIX-lea, demonstrînd nu numai că toate organismele cunoscute au o alcătuire celulară sau pluricelulară, dar că celulele provin exclusiv din alte celule. În organismul uman, de pildă, care își are originea într-o singură celulă zigot, există un număr de aproximativ $2 \times 10^{11}$ celule.

Pentru studiul eredității, cunoașterea celulei și a diviziunii celulare prezintă o mare importanță, deoarece de modul cum se realizează continuitatea vieții depinde și fenomenul ereditar. *În esență, problema se reduce la cunoașterea mecanismului prin care ereditatea se transmite de la celula-mamă la celulele-fiice în procesul diviziunii mitotice și la mecanismul prin care caracterele ereditare se moștenesc de la o generație la alta în urma diviziunii celulare reducționale (meioza), a formării gameților masculi și femeli (microsporogeneză și megasporogeneză la plante, spermatogeneză și ovogeneză la animale) și a procesului fecundării.*

După elaborarea teoriei celulare, studiul celulei a luat un extraordinar avînt, realizîndu-se descoperiri de mare însemnătate atît privind structura și funcțiile celulare cît și mecanismul prin care se realizează transmiterea ereditară a caracterelor la nivel celular. Astfel, în 1875 E. Strassburger descoperă că în momentul cînd celula se

divide, nucleul se împarte în niște structuri în număr relativ constant pentru o anumită specie, pe care le-a numit *cromozomi*. Denumirea de cromozomi înseamnă „stricto sensu" *corpusculi coloraţi*. În perioada imediat următoare se descoperă fenomenul diviziunii celulare, denumită mitoză (W. Fleming, 1882), iar O. Hertwig (1865) și Fol (1877) la animale, precum și E. Strassburger (1884) la plante descoperă fecundația care constituie esența procesului sexual.

Studiul celulei și al diviziunii celulare la diferite plante și animale a demonstrat că indiferent de marile deosebiri dintre speciile studiate, diviziunea celulară se desfășoară în linii mari în același fel. În mod deosebit s-a remarcat numărul de cromozomi relativ constant în toate celulele somatice ale unei specii, precum și mecanismul mitotic de înaltă precizie prin care cromozomii se dedublează și se împart egal la celulele-fiice. Aceasta a dus bineînțeles la concluzia că cromozomii și respectiv nucleul au un rol important în transmiterea ereditară a caracterelor. Meritul de a fi stabilit legătura logică dintre factorii ereditari (gene) ai lui G. Mendel și cromozomi, ca purtători ai acestor gene, a revenit biologului american W. S. Sutton (1902) și celui german T. Boveri (1904). Aproape concomitent acești doi geneticieni au emis ipoteza că genele sînt plasate pe cromozomi, ipoteză ce a fost preluată și dusă la apogeu de către T. Morgan și școala sa. Elaborarea legilor mendeliene ale segregării și descoperirea mecanismului celular al eredităţii au constituit pietre fundamentale ale geneticii clasice.

Dezvoltarea citologiei experimentale a reușit astfel nu numai să pună în lumină rolul structural și funcţional al diferitelor componente celulare, dar și importanța deosebită a anumitor structuri citologice în procesul ereditar. În felul acesta s-au suprapus preocupările geneticienilor pentru găsirea unui substrat material factorilor ereditari (genelor), cu preocupările citologilor de a cunoaște cît mai multilateral celula. Din această colaborare a apărut *citogenetica*, știință de contact ce studiază ereditatea organismelor la nivel celular.

În ultima vreme, cercetările privind celula au luat un mare avînt, datorită folosirii unor metode și tehnici moderne, cum sînt : microscopia în contrast de fază, în ultraviolet, în lumină polarizată, în lumină fluorescentă, microscopia electronică, ultracentrifugarea, microradioautografia, electroforeza și cromatografia, culturile artificiale de celule și țesuturi etc.

Deși varietatea celulelor existente în lumea vie, în corpul plantelor, animalelor, omului sau microorganismelor este extrem de mare, atît ca diversitate a alcătuirii și formei celulei cît și ca multitudine a posibilităţilor funcţionale, există o anumită schemă de bază a organizării celulare, valabilă pentru orice organism. Cel mai frecvent *celula este definită ca citoplasmă nucleată, înconjurată de un perete celular sau o membrană, existînd singură sau în grup și conținînd diverse structuri.*

## MEMBRANA CELULARĂ

Fiecare celulă vie este delimitată la exterior de un perete celular sau membrană bine dezvoltată la majoritatea țesuturilor vegetale și de obicei invizibilă în țesuturile animale examinate cu ajutorul tehnicilor obișnuite la microscopul optic. La plante membrana poate fi mai groasă sau mai subțire, netedă sau cu ornamentații, impregnată de cele mai multe ori cu celuloză, lignină, diverse substanțe minerale ori cu substanțe grase ca suberina și ceara. La animale ea este de cele mai multe ori extrem de fină, fiind constituită dintr-o simplă peliculă ce separă conținutul celular de lichidul interstițial. Grosimea acestei pelicule este de aproximativ 70—200 Å și a putut fi pusă în evidență cu ajutorul microscopului cu lumină polarizată, cu un aparat optic special numit leptoscop și la microscopul electronic.

La microscopul optic, suprafața celulei animale apare netedă, în timp ce la microscopul electronic ea apare neregulată datorită numeroaselor proeminențe ale citoplasmei în formă de tubușoare sau de diferite alte forme învelite în membrana plasmatică. Ele contribuie la mărirea suprafeței celulei, ceea ce favorizează schimbul de substanțe între celule și lichidul interstițial, și la întrepătrunderea microvilozităților,

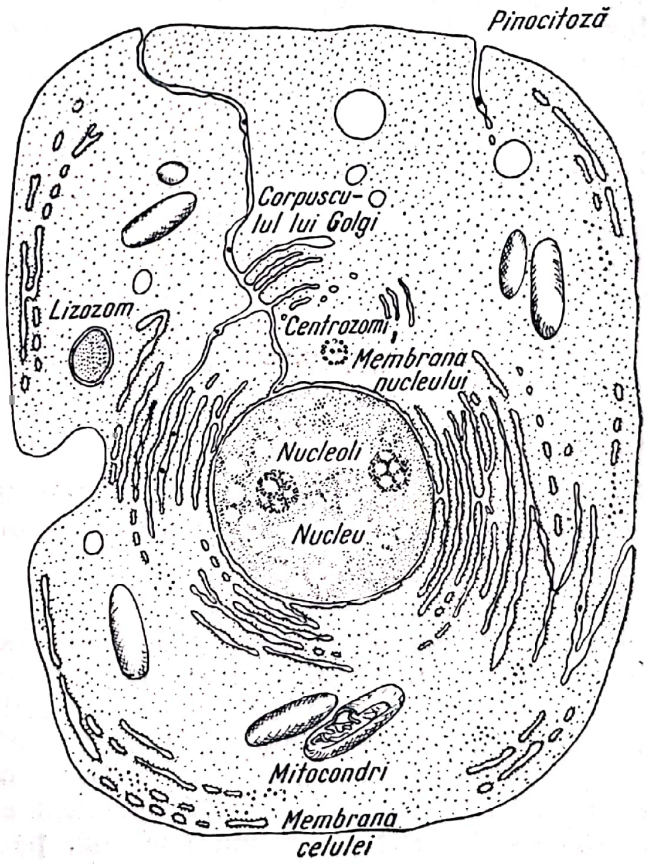



Fig. 12. Schema alcătuirii unei celule.

ceea ce mărește, de asemenea, suprafața de aderență a celulelor între ele.

Pereții celulari sînt un produs de secreție a citoplasmei. Acest fapt este probat în plus de constatarea că în țesuturile tinere ale plantelor (meristeme) membrana celulară este extrem de subțire, pentru ca ulterior prin desfășurarea activității vitale a celulei. ea să se îngroașe conform specificului fiecărui țesut.

Multă vreme s-a considerat că singurul rol al membranei celulare este de a proteja citoplasma și nucleul. Ideea aceasta se baza mai ales pe faptul că îngroșările din pereții celulari ai unor plante și impregnarea lor cu diverse substanțe era mai pronunțată în celulele epidermei. În plus, conținutul sporit în celuloză, suberină, lignină și alte substanțe aflate în pereții celulari contribuie în mod esențial la susținerea corpului plantelor, fie ierboase, fie arboricole.

Deși invizibilă, la celulele animale prezența membranei celulare a fost dovedită încă înainte de a se proba existența ei faptică, argumentul principal fiind acela că membrana este o barieră selectivă în calea pătrunderii substanțelor cu molecule de diferite mărimi în interiorul ei.

Referitor la cauzele acestei selectivități, extrem de importantă pentru metabolismul celular și care ne dovedește rolul funcțional activ al membranei în viața celulei, s-au emis recent diverse ipoteze. Pornindu-se de la observația că viteza trecerii diverselor molecule prin membrană depinde într-o măsură însemnată de solubilitatea lor în diverși solvenți lipidici, s-a emis presupunerea că membrana plasmatică conține o anumită cantitate de lipide. Într-adevăr s-a constatat recent că membrana constă dintr-un strat bimolecular de lipide, în care moleculele lungi și subțiri sînt dispuse paralel și perpendicular față de membrană, terminațiile lor nepolare fiind opuse ; stratul lipidic este prins între două straturi moleculare de proteine legate de lipide la extremitățile lor polare. Pătrunderea ionilor sau a altor substanțe prin membrană se presupune că s-ar putea face pe trei căi :

*a)* prin niște pori infimi ai membranei umpluți cu apă, de aproximativ 3 Å în diametru, limitarea trecerii fiind pusă pe seama numărului redus de pori pe unitatea de suprafață de membrană (permeabilitatea membranei, de aproximativ 100 de ori mai mare față de $K^+$ decît față de $Na^+$ a dus la prezumția diametrului porilor de 3 Å, cifră intermediară între diametrele ionilor hidratați de $K^+$ — 2,2 Å și $Na^+$ — — 3,4 Å) ;

*b)* datorită existenței unei molecule speciale lipidosolubile transportoare (eventual o fosfolipidă) care se combină cu precădere cu anumiți ioni. Un ion din lichidul interstițial se poate combina cu această moleculă la suprafața exterioară a membranei, complexul transportor de ioni putînd difuza prin membrană spre suprafața ei interioară, după care ionul s-ar disocia de molecula transportoare, intrînd în lichidul intracelular. Unii biochimiști consideră că o astfel de moleculă transportoare nu poate fi decît o enzimă specială, pe care au denumit-o permează ;

Scanned with OKEN Scanner

*c)* în sfîrșit, o altă ipoteză admite că membrana plasmatică poate forma o învaginare spre citoplasmă, învaginare în care se găsește lichid interstițial cu diverse substanțe, după care această învaginare se separă sub formă de veziculă foarte mică plină cu lichid ambiant. Acest fenomen a fost denumit *pinocitoză* și a fost constatat ca un fapt real la anumite celule.

În membrana celulelor plantelor, existența porilor dintre celule a fost de mult timp dovedită prin punerea în evidență a micilor canalicule ce străbat învelișul celulozo-pectic al celulei, numite *plasmadesme* și care permit trecerea substanțelor de la o celulă la alta.

Așadar, membrana celulară joacă un rol fiziologic și biochimic activ în viața celulelor, intervenind în schimburile de substanțe de la o celulă la alta și protejînd citoplasma de contactul nemijlocit cu mediul.

## CITOPLASMA

Citoplasma sau plasma celulară mărginită de membrană apare la microscopul obișnuit și chiar la cel electronic, ca o structură omogenă elastică și hialină cu o puternică capacitate de a reflecta lumina. Din punct de vedere chimic, ea este un sistem cu o complexitate structurală uimitoare. Multă vreme s-a considerat că citoplasma se găsește în stare coloidală, ulterior dovedindu-se însă că ea poate exista și sub formă de coacervat, de emulsie sau de soluție adevărată. Adevărul este că toate aceste stări de organizare coexistă, ele fiind într-o permanentă transformare, în funcție de activitatea celulei și vîrsta organismului.

Deseori în interiorul citoplasmei se disting două porțiuni sensibil diferite, și anume un strat periferic sau *ectoplasma,* cu o constituție mai compactă și lipsită de granule, și *endoplasma,* în care sînt plasați diferiți constituenți și incluziuni citoplasmatice. Ectoplasma cel mai adeseori apare sub formă de coloid, constînd din macromolecule capabile să treacă din starea de gel în starea de sol. Endoplasma se distinge printr-o viscozitate mai scăzută, dar care este totuși mult peste viscozitatea apei (de 2—10 ori).

În compoziția chimică a citoplasmei intră apă, protide, polizaharide, acizi nucleici și cantități reduse de alte substanțe. Toate acestea au o organizare specifică extrem de complicată și în același timp extrem de interesantă. În primul rînd este remarcabilă prezența substanțelor cu greutate moleculară mare, care alcătuiesc un citoschelet, format din macromolecule corpusculare sau globulare și din macromolecule fibrilare așezate dezordonat în toate direcțiile spațiului. Aceste macromolecule se întretaie între ele, la punctele de întretăiere existînd legături chimice între lanțurile macromoleculare, ceea ce unește întreg complexul macromolecular într-un agregat cu aspect reticular.

Numărul legăturilor dintre lanțurile macromoleculare determină gradul de fluiditate sau de viscozitate al citoplasmei. Labilitatea acestor

Scanned with OKEN Scanner

legături, desfacerea și refacerea lor este condiționată de *p*H-ul celular, de temperatură și de concentrația anumitor ioni în citoplasmă etc. Această stromă moleculară citoplasmatică constituie substratul material în ochiurile căruia interacționează substanțele pătrunse dinafara celulei cu cele existente în interior, fermenții și alte substanțe, reacții biochimice la care însuși citoscheletul macromoleculelor participă activ.

## CONSTITUENȚII CITOPLASMATICI

Tehnicile de citologie moleculară și microscopul electronic au contribuit într-o măsură însemnată la rezolvarea atît de controversatei probleme a constituenților citoplasmatici, descriși în diverse moduri de diferiți autori și care le atribuiau cele mai variate funcții. Este vorba de *reticulul endoplasmatic, microzomii, ribozomii, ergastoplasma, condriomul, aparatul Golgi, centriolii* și *lizozomul,* iar în celulele plantelor, în plus, *plastidele*. Toate acestea sînt formațiuni structurale și fiziologice ale celulei, specializate pentru îndeplinirea anumitor funcții în bioeconomia celulară și înzestrate în marea lor majoritate cu capacitatea de a se autoreproduce.

*Reticulul endoplasmatic* sau sistemul vacuolar al citoplasmei a fost pus în evidență pentru prima oară în anul 1945 de K. P. Sorter, A. Claude și E. F. Tullman, cu ajutorul microscopului electronic, în culturi de țesuturi, pentru ca prezența lui să fie semnalată ulterior în toate celulele analizate. Este vorba de un sistem de canalicule cu un diametru de 500 Å și vezicule ceva mai mari, care se lărgesc puternic în așa-numitele cisterne (cu diametrul de 2 000 Å), dispuse în toate direcțiile spațiului. Conținutul acestor spații are o constituție omogenă și clară, el fiind separat de restul citoplasmei printr-o membrană extrem de fină. Datorită puternicei sale răspîndiri în celulă și datorită faptului că în unele celule s-a constatat că membrana sa se continuă cu membrana plasmatică, se presupune că reticulul endoplasmatic are un rol important în pătrunderea substanțelor din spațiul intercelular în interiorul celulei.

*Microzomii și ribozomii* au fost descoperiți de A. Claude (1943) și respectiv R. B. Roberts (1947). Microzomii sînt niște formațiuni celulare sferice, cu diametru de aproximativ 200 Å și care pot fi izolați din citoplasmă printr-o centrifugare fracționată prelungită. Prin tratarea microzomilor mai ales cu solvenți lipidici are loc dizolvarea membranei lor și ca urmare ei se comportă mult mai omogen la centrifugarea analitică. Acești corpusculi sferici, cu diametrul de 100—150 Å și formați în special din acid ribonucleic și proteine, au primit în 1947 denumirea de *ribozomi*. De curînd s-a dovedit importanța extrem de mare a ribozomilor și a unităților lor componente în biosinteza proteinelor celulare, lucru care explică un fapt observat mai de mult, și anume, pe de o parte, bazofilia extrem de crescută a unor celule cu o puternică capacitate de

Scanned with OKEN Scanner

sintetizare a proteinelor citoplasmatice, cum sînt celulele tinere pe cale de diferențiere, celulele în curs de diviziune rapidă, ca, de exemplu, cele din stratul germinativ al epidermei, celulele glandulare care secretă produse de natură protidică etc., și, pe de altă parte, acidofilia citoplasmei celulelor complet diferențiate, care nu elaborează protide, și a celor îmbătrînite.

*Ergastoplasma* este o formațiune citoplasmatică vizibilă și la microscopul obișnuit unde apare sub formă de lamele paralele sau dispuse concentric, numite *parasomi*. Ele au, de asemenea, un puternic caracter bazofil. Cercetările cu ajutorul microscopului electronic au pus în evidență relațiile strînse ale componenților ergastoplasmei cu microzomii și cu reticulul endoplasmatic.

*Condriomul* este alcătuit dintr-un ansamblu de formațiuni, care a fost de multă vreme semnalat prin cercetările de microscopie optică ca niște structuri sferice *(mitocondrii)* sau alungite *(condriocite)*. Prin metodele de ultracentrifugare, prin care se separă conținutul celular în fracțiuni diferite în funcție de greutatea lor, s-a dovedit că în componența condriomului intră protide, lipide (gliceride, lecitină, cefalină, colesterină), A R N, vitaminele A și C, precum și o serie întreagă de enzime extrem de importante pentru metabolismul celulei și care intervin în special în respirația celulară. La microscopul electronic, condriozomii apar formați dintr-o membrană dublă, groasă de 50—70 Å, care dă naștere în interior la niște cute sau creste, simple sau ramificate, de cele mai multe ori avînd forma unor lamele transversale, ori tubușoare cu dispoziție variată. Conținutul condriozomilor este reprezentat de o substanță clară, omogenă. La nivelul suprafeței extrem de mari de contact (datorită crestelor și tubușoarelor) între membrana condriozomului și conținutul său se desfășoară însemnate procese biochimice de transport de electroni specifice respirației celulare (ciclul Creps) care generează energie, și mecanisme cu ajutorul cărora această energie se înmagazinează sub formă de legături macroergice.

*Aparatul Golgi* a fost, de asemenea, evidențiat cu ajutorul microscopului optic obișnuit prin anumite tehnici ca fiind format din *dictiozomi* de diferite forme și mărimi și plasat fie difuz în toată celula, fie polarizat într-o anumită porțiune. Cu ajutorul microscopului electronic s-a dovedit că dictiozomii sînt alcătuiți din trei componente, și anume: *saculi turtiți, microvezicule* (cu diametrul de 600 Å) și *vezicule mari* care pot trece în diametru de 1 000 Å. Metodele histochimice au evidențiat faptul că dictiozomii conțin în majoritate lipoproteine și o cantitate mai mică de mucopolizaharide, fosfatază alcalină și vitamina C. Numeroasele cercetări efectuate asupra funcției acestor formațiuni citoplasmatice au arătat că ele pot avea variate roluri: în secreția diverselor produse celulare (în celulele pancreatice exocrine, în celulele hepatice, în celulele glandelor paratiroide etc.), în procesul de elaborare a acrozomului (în spermatogeneză), în secreția vitelusului la unele tipuri de ouă, la acumularea unor substanțe toxice etc. În celulele plantelor prezența aparatului Golgi a fost

Scanned with OKEN Scanner

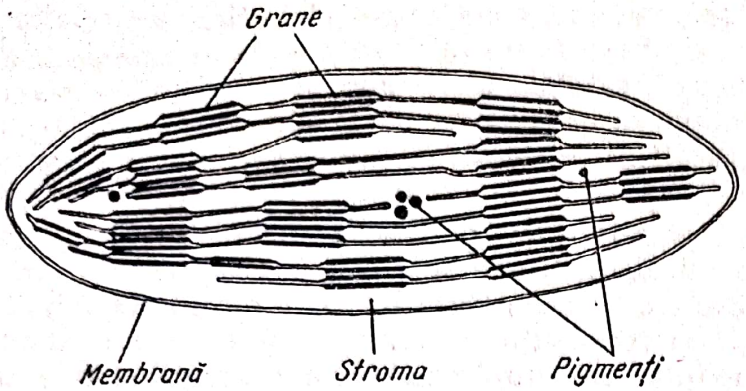



Fig. 13. Reprezentarea schematică a unei cloroplaste.

necunoscută pînă în anul 1956. După cercetarea aparatului Golgi în celulele animale cu ajutorul microscopului electronic, el a fost descoperit și la plante și are o structură asemănătoare.

De curînd s-a pus în evidență existența încă a unui constituent citoplasmatic, și anume *lizozomul* sau corpusculii denși. Ei au fost separați prin ultracentrifugare fracționată de către Christian de Duve din fracțiunea mitocondrială. Fotografiați la microscopul electronic, lizozomii apar sub formă de corpusculi ovoizi, cu un conținut granular dens și o membrană simplă sau dublă. Ei conțin enzime digestive capabile să desfacă lanțuri mari de macromolecule de proteine, acizi nucleici, lipide, în catene mai mici care pot fi oxidate de enzimele oxidative ale mitocondriilor. De Duve presupune că lizozomul reprezintă un mecanism de apărare a celulei : membrana lizozomului izolează enzimele digestive de restul citoplasmei, ruperea acestei membrane și eliberarea enzimelor din interior provocînd liza celulei.

*Plastidele* sau *cloroplastele* sînt formațiuni celulare prezente la toate plantele, cu excepția bacteriilor, micromicetelor, ciupercilor și a unor alge. Caracteristică pentru plastide este prezența unor pigmenți speciali, cum sînt clorofila și pigmenții carotenoizi cu ajutorul cărora se sintetizează substanțe organice complexe. Forma și numărul plastidelor variază extrem de mult de la o plantă la alta, ele fiind mai omogene la plantele superioare, avînd dimensiuni între 4 și 6 μ. Compoziția lor cuprinde (concentrațiile sînt date pentru plastidele extrase din frunzele de spanac) : 56,4% protide, 31,9% lipide (grăsimi neutre, steroizi și fosfolipide îndeosebi lecitină), 7,7% clorofilă și cantități mai mici de carotină și xantofilă. În ceea ce privește structura cloroplastelor, microscopia optică a semnalat aspectul lor heterogen rezultat în urma prezenței de *grane* transversale cuprinse în stroma cloroplastului. Microscopul electronic a confirmat existența unui număr de 4—60 lamele în fiecare cloroplast din celulele mezofilului frunzelor. Diametrul lamelelor este în jur de 130 Å, ele avînd forma unor infime discuri așezate pachet unul peste altul. Fiecare lamelă constă (după modelul elaborat de A. J. Hodge, J. D. Mc Lean și F. V. Mercer în 1955) din straturi de proteine și lipide înconjurate la exterior și la interior de cîte un strat de clorofilă. Func-

Scanned with OKEN Scanner

ția cloroplastelor în celulă este de mult cunoscută și constă în esență în realizarea procesului de fotosinteză, care implică importante procese biochimice, înmagazinarea energiei solare în complexe macromoleculare și eliberarea oxigenului molecular. Mai recent în cloroplaste s-au descoperit și mici cantități de A D N.

## NUCLEUL

Fără îndoială că nucleul este una dintre cele mai importante componente ale celulei. Deși prezența lui în celulă a fost pusă în evidență încă din anul 1831 de către R. B r o w n, studiile consacrate morfologiei, compoziției și rolului nucleului în viața celulei s-au dezvoltat ulterior considerabil, ceea ce a dat naștere unei ramuri speciale a citologiei consacrată studiului lui, numită *cariologie*. În celulele care nu se divid (în interfază), nucleul apare de obicei sferic, putînd însă avea în anumite țesuturi și alte forme. El este de regulă înconjurat de o membrană ce-l separă de citoplasmă, numită *cariotecă* sau *membrană nucleară*. La microscopul optic conținutul nucleului apare fie omogen și cu unul sau mai mulți nucleoli, fie prezintă un număr variabil de granule de cromatină.

Examinată la microscopul electronic, membrana nucleară apare formată din două straturi cu o grosime de 50—100 Å fiecare, între care se găsește un spațiu variind între 100 și 150 Å. Această membrană nucleară dublă este discontinuă, prezentînd *pori* al căror diametru variază între 150 și 1 000 Å. Prin acești pori se efectuează schimbul intens și continuu de substanțe dintre nucleu și citoplasmă. Faptul că în anumite puncte membrana nucleară se continuă cu membrana reticulului endoplasmatic a făcut pe numeroși citologi să susțină că ea nu este altceva decît o parte a reticulului endoplasmatic care delimitează materialul nuclear de citoplasmă. *Cariolimfa* (plasma nucleară) apare la microscopul electronic fie omogenă, fie fin granulară, în funcție de tehnica citologică de fixare a materialului.

*Nucleolul* este îndeobște lipsit de membrană și constituit din cordoane confluente în anumite puncte și alcătuite la rîndul lor din mici granulații sferice. Unii cercetători susțin că aceste granulații sînt de aceeași mărime cu ribozomii și ele apar uneori libere atît în cariolimfă cît și în citoplasmă, în jurul membranei nucleare. Această afirmație a dus la emiterea ipotezei că A.R.N.-ul este sintetizat în nucleol, de unde trece în citoplasmă și se localizează în ribozomi. Prin metoda microradioautografiei s-a confirmat faptul că *nucleolul este centrul de sinteză al A R N.*

În general se consideră că nucleul este o formațiune citoplasmatică care s-a diferențiat mai tîrziu în cursul evoluției lumii vii întrucît o serie de organisme inferioare, ca algele albastre și bacteriile, par lip-

Scanned with OKEN Scanner

site de nucleu. În realitate, ele posedă material nuclear format din acid dezoxiribonucleic, care însă nu este separat de restul celulei printr-o membrană nucleară. Nu de mult, cu ajutorul microscopului electronic, s-a pus în evidență la bacterii prezența unui corpuscul nucleoid cu aspect mai transparent decît citoplasma, conținînd material nucleoproteic, dar neseparat prin membrană de restul celulei. La virusuri s-a semnalat, de asemenea, prezența nucleoproteinelor, componente specifice ale nucleului. Aceste constatări au dus la ideea, cea mai larg acceptată astăzi, că nucleul este o componentă constantă a celulei, fie sub forma sa obișnuită, fie sub forma unor echivalenți care să îndeplinească rolul său celular.

Mărimea și forma nucleului variază în funcție de tipul celulei, însă s-a constatat un fapt interesant, și anume că între volumul citoplasmei și cel al nucleului există un anumit raport matematic :

$$NP = \frac{V\,n}{V\,c - V\,n}$$ , în care $N\,P$ este indexul nucleu-citoplasmă, $V\,n =$ = volumul nucleului și $V\,c =$ volumul celulei.

Din punct de vedere chimic, nucleul are o greutate specifică mai mare decît a citoplasmei, viscozitate sporită și un *pH* variind între 7,6 și 7,8. El este alcătuit în principal din nucleoproteine, rezultate din unirea proteinelor cu acizii nucleici, și care formează 96—100% din conținutul nucleului. În aceste complexe macromoleculare se disting : proteine fundamentale (protamine și histone), proteine nehistonice cu greutate moleculară mare și unele enzime (adenozin dezaminaza, nucleozid fosfataza, guanaza, esteraza etc.), acid dezoxiribonucleic (A D N), acid ribonucleic (A R N), lipide și cîțiva compuși neorganici.

Compoziția chimică a nucleului variază mult în diverse faze funcționale ale celulei. Analizînd acizii nucleici din nucleu cu ajutorul difracției în ultraviolet, T. Caspersson a constatat că în celulele glandulare, pe măsură ce produsul respectiv se elaborează și se acumulează în citoplasmă, scade cantitatea de acizi nucleici din nucleu, pentru ca după elaborarea produsului de secreție cantitatea de A D N să crească din nou pînă la nivelul normal. Acesta este unul dintre exemplele care dovedesc participarea activă a nucleului și a componenților săi la întreaga activitate a celulei.

Rolul nucleului în viața celulei este extrem de important. Citoplasma nu poate continua multă vreme să trăiască în lipsa nucleului (fapt dovedit de multă vreme prin cunoscuta experiență prin care se realiza tăierea unei amoebe în două părți, una nucleată și alta enucleată, porțiunea nucleată supraviețuind și cealaltă nu), deoarece el este principalul centru de sinteză a ADN-ului, care are rol extrem de important în procesul ereditar celular, și constituie principalul centru de sinteză a A R N-ului mesager, care joacă îndeosebi rolul de purtător al mesajului genetic de la A D N la citoplasmă. În sfîrșit, dar poate în primul rînd, nucleul ia parte activă la diviziunea celulară (mitoză) și diviziunea de maturare a game-

Scanned with OKEN Scanner

ților sexuali (meioză). În aceste procese, el își schimbă complet aspectul, intrînd în ciclul de diviziune celulară și dînd naștere unor formațiuni specifice acestor faze ale diviziunii.

## DIVIZIUNEA CELULARĂ

Existența tuturor organismelor vii, fie unicelulare, fie pluricelulare, este condiționată în timp de diviziunea celulelor. La ființele unicelulare prin diviziune, celula se împarte de cele mai multe ori în două părți, dînd naștere la două organisme unicelulare noi, asemănătoare cu celula din care au provenit. La cele pluricelulare, dintr-o celulă inițială numită ou sau zigot, rezultată din fecundarea ovulei cu elementul sexual mascul, ia naștere prin diviziunea și diferențierea celulelor un organism nou. Creșterea, dezvoltarea și reproducerea, ca proprietăți generale ale ființelor vii, se bazează pe procesul unic comun de diviziune celulară, prin intermediul căruia se realizează transmiterea ereditară a caracterelor de la o celulă la alta, de la un organism la altul, de la o generație la alta.

Diviziunea oricărei celule constă în dublarea tuturor componentelor sale urmată de împărțirea în două celule-fiice. În lumea vie există două modalități de realizare a acestui proces : *diviziunea directă,* care se face prin alungirea celulei și strangularea ei în două părți egale sau inegale, și *diviziunea indirectă,* supranumită *cariochineză* sau *mitoză*. Diviziunea directă se întîlnește extrem de rar și numai la unele organisme inferioare, astfel încît o putem considera ca excepție. În schimb, diviziunea mito-

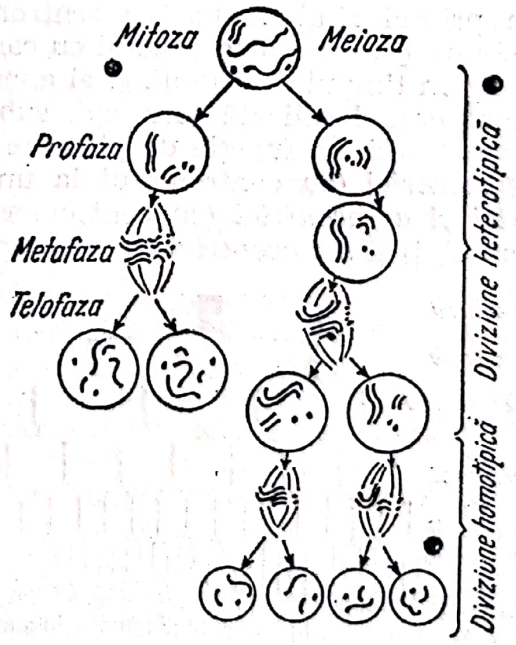



Fig. 14. Deosebirea dintre diviziunea mitotică și cea reducțională (meioza).

tică este calea cea mai obișnuită prin care dintr-o celulă vie iau naștere două celule noi. Caracteristica principală a mitozei este apariția unor formațiuni specifice perioadei de diviziune celulară — *cromozomii* — observați pentru prima oară în anul 1875 de E. Strassburger. Importanța lor biologică a fost înțeleasă însă mult mai tîrziu, abia după ce W. Fleming (1882) descoperă diviziunea mitotică. În fine mai există un tip de diviziune celulară, și anume *meioza,* prin care se formează celulele sexuale cu un număr de cromozomi reduși la jumătate *(n)* față de celulele somatice (2 *n*).

## NUMĂRUL, FORMA ȘI STRUCTURA CROMOZOMILOR

Cromozomii se prezintă la microscopul optic ca niște corpusculi de dimensiuni mari și în formă de bastonaș, intens colorabili prin metode specifice. Lungimea lor variază între 0,2 și 50μ și diametrul între 0,2 și 2μ. Cea mai însemnată caracteristică a cromozomilor este numărul lor. În celulele somatice, numărul cromozomilor este dublu *(2 n),* deoarece acestea iau naștere prin diviziunea zigotului diploid format prin unirea unui gamet femel cu un gamet mascul care sînt haploizi avînd un număr simplu de cromozomi *(n).* Astfel celulele corpului omenesc conțin $2\ n = 46$ cromozomi, iar ovulele și spermatozoizii cîte $n = 23$ cromozomi.

S-a constatat că numărul și forma cromozomilor sînt caracteristici constante și specifice pentru fiecare specie de viețuitoare, ceea ce a făcut ca ei să devină unele dintre cele mai importante criterii taxonomice. Numărul cromozomilor poate varia de la o specie la alta, în limite foarte largi : nematodul *Ascaris megalocephala univalens* avînd $2\ n = 2$, în timp ce alte specii animale au pînă la 1 500—1 600 cromozomi în celulele somatice.

Cromozomii (observați în metafază) au diverse forme, care depind în primul rînd de poziția centromerului. *Centromerul* sau *cinetochorul* este porțiunea cromozomului cu care acesta se fixează de fibra fusului nuclear în timpul diviziunii, și el apare de obicei ca o strangulare sau o zonă luminoasă localizată terminal, subterminal sau median de-a lungul cromozomului. În funcție de plasarea acestei strangulări, cromozomii pot fi : *telocentrici* (cu centromerul la un capăt al cromozomului), *submetacentrici și acrocentrici* (cu centromerul deplasat spre un capăt al cromozomului) și *metacentrici* (cu centromerul plasat median).

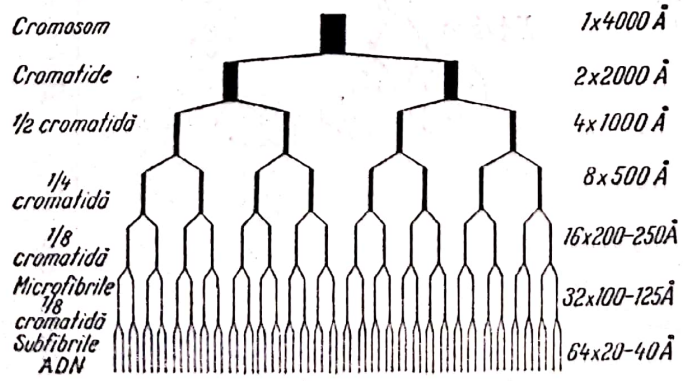



Fig. 15. O ipoteză privind alcătuirea cromozomului (după *Grundmann,* 1964).

**NUMĂRUL DIPLOID DIN CROMOZOMI LA OM ȘI LA CÎTEVA SPECII DE ANIMALE ȘI PLANTE**

| | | | |
|---|---|---|---|
| *Homo sapiens* (om) | 46 | *Fagus silvatica* (fag) | 24 |
| *Macaca mulatta* (maimuța Rhesus) | 48 | *Populus alba* (plop alb) | 38 |
| *Equus caballus* (cal) | 64 | *Prunus domestica* (prun) | 48 |
| *Equus asinus* (asin) | 62 | *Prunus cerasus* (cireș) | 32 |
| *Equus hinnus* (catîr) | 63 | *Morus nigra* (dud) | 308 |
| *Equus zebra* (zebra) | 34 | *Vitis vinifera* (vița de vie) | 38 |
| *Bos taurus* (bou) | 60 | *Colchicum autumnale* (brîndușa de toamnă) | 38 |
| *Ovis aries* (oaie) | 54 | *Gossypium hirstum* (bumbac) | 52 |
| *Sus scrofa* (porc) | 38 | *Phaseolus vulgaris* (fasole) | 22 |
| *Felis maniculata* (pisică) | 38 | *Pisum sativum* (mazăre) | 14 |
| *Canis familiaris* (cîine) | 78 | *Medicago sativa* (lucerna) | 32 |
| *Mus musculus* (șoarece) | 40 | *Piper nigrum* (piper) | 128 |
| *Mesocricetus auratus* (hamster auriu) | 44 | *Spinacia oleracea* (spanac) | 12 |
| *Mesocricetus newtoni* (hamster românesc) | 38 | *Brassica oleracea* (varză) | 18 |
| *Cricetulus griseus* (hamster chinezesc) | 22 | *Raphanus sativus* (ridiche) | 18 |
| *Gallus domesticus* (găină) | 78 | *Cucumis sativus* (castravete) | 14 |
| *Columba livia domestica* (porumbel) | 80 | *Citrullus vulgaris* (pepene verde) | 22 |
| *Passer domesticus* (vrabie) | 76 | *Nicotiana tabacum* (tutun) | 48 |
| *Rana esculenta* (broască) | 26 | *Solanum tuberosum* (cartof) | 48 |
| *Bufo viridis* (broasca rîioasă) | 22 | *Solanum lycopersicum* (tomate) | 24 |
| *Carassius auratus* (caras auriu) | 94 | *Helianthus annuus* (floarea soarelui) | 34 |
| *Musca domestica* (muscă) | 12 | *Allium cepa* (ceapă) | 16 |
| *Drosophila melanogaster* (musculița de oțet) | 8 | *Zea mays* (porumb) | 20 |
| *Culex pipiens* (țînțar) | 6 | *Hordeum vulgare* (orz) | 14 |
| *Eupagurus ochotensis* (pagur) | 254 | *Triticum aestivum* (grîu) | 42 |
| *Hydra viridis* (hidra) | 32 | *Secale cereale* (secară) | 14 |
| | | *Oryza sativa* (orez) | 24 |

Numărul și forma cromozomilor determină un anumit *cariotip* caracteristic pentru fiecare specie de viețuitoare. Cu ajutorul studiului cariotipului unor organisme se poate elucida cu ușurință poziția lor sistematică, atunci cînd există îndoieli în această privință. De exemplu P. Raicu și S. Bratosin (1964) analizînd cariotipul speciei de rozătoare *Mesocricetus newtoni* (grivanul cu coada scurtă sau hamsterul românesc) care trăiește în țara noastră, au arătat că acesta posedă un cariotip specific și $2n = 38$ de cromozomi, ceea ce deosebește net pe *M. newtoni* de *M. auratus* (hamsterul sirian), care are $2n = 44$ cromozomi. În acest fel s-a putut demonstra că *M. newtoni* nu este o subspecie a lui *M. auratus* cum se considera, ci este o specie valabilă.

Scanned with OKEN Scanner

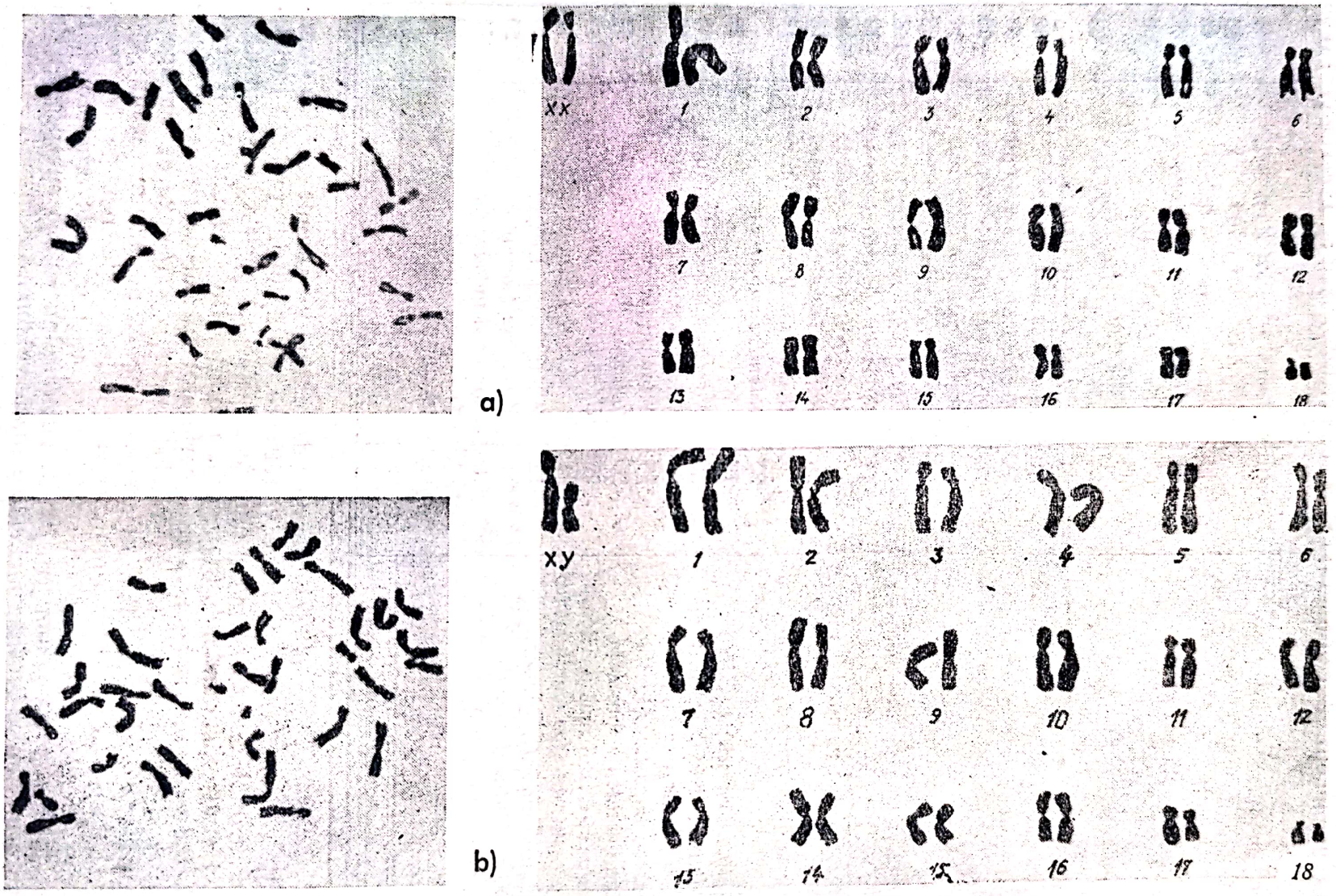



Fig. 16 a.) Cromozomi metafazici *(stînga)* la o femelă de hamster românesc *(Mesocricetus newtoni)* și cariotipul corespunzător *(dreapta)* (original). b) Idem la mascul — jos (original).

În afară de cromozomii obișnuiți prezenți în toate celulele corpului, mai există și alte tipuri de cromozomi somatici observați numai la unele organisme și numai în anumite regiuni ale corpului. Este vorba de *cromozomii uriași sau cromozomii politenici* din glandele salivare ale larvelor unor grupe de insecte *Chironomidae, Sciuridae, Culicidae, Simulidae, Cecidomydae, Drosophilidae* etc., și *cromozomii în formă de perie de lampă (lampbrush)* descoperiți în ovocitele tritonului. Deși rolul lor n-a putut fi elucidat în întregime, modificările lor în funcție de fazele diviziunii celulei și a activității secretorii a celulei (în cazul cromozomilor politenici) dovedește participarea lor la activitatea fiziologică a celulei.

Din punct de vedere chimic cromozomii au aceeași compoziție ca și nucleul, întrucît ei nu sînt altceva decît material nuclear în activitatea specifică diviziunii. Structura internă a cromozomilor a fost îndeaproape studiată mai ales după apariția teoriei cromozomice a eredității a lui T h. M o r g a n. Astfel, cu ajutorul mijloacelor clasice de fixare, colorare și observare s-au descoperit în interiorul cromozomilor spirale denumite *cromoneme,* care manifestă un grad mai pronunțat sau mai scăzut de spiralizare în diverse faze ale diviziunii. În 1956, S. A m a n o și colaboratorii săi confirmă existența unei *cromoneme* de 300—1 200 Å în interiorul cromozomilor, o *subcromonemă* de 130—300 Å și o *protocromonemă* de 20—30 Å . Pe fotografii obținute la microscopul electronic, E. R o b e r t s (1956) observă în procesul de spermatogeneză cromozomi alcătuiți din microfibrile cu diametrul de 30—170 Å. El presupune că aceste microfibrile spirale pot avea aceeași mărime ca și moleculele de nucleoproteine ce intră în componența cromozomilor și face chiar o identificare a lor. În sprijinul acestei afirmații, E. Roberts aduce două argumente rezultate din observații efectuate la virusuri și bacterii, și anume : în cazul bacteriofagilor A D N-ul este constituit din spirale cu

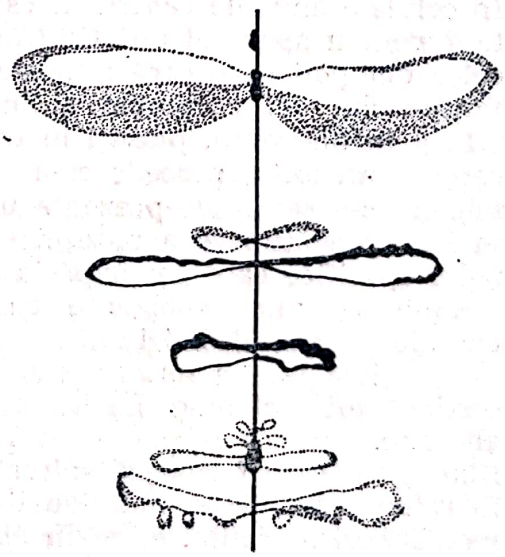


Fig. 17. Reprezentarea schematică a unui cromozom „perie de sticlă de lampă" (după *Kuyper, 1962).*

o grosime în jur de 20 Å (Fraser și R. Williams, 1953) și în nucleoizii bacteriilor s-au găsit, de asemenea, spirale macromoleculare de diferite dimensiuni. O serie de alte cercetări mai recente nu confirmă în totalitate aceste presupuneri. Se poate conchide că în momentul de față nu se cunoaște modul de așezare a macromoleculelor de nucleoproteine în cromozomi, ci există numai ipoteze și modele teoretice. Dintre acestea, cel mai cunoscut model a fost elaborat de *E. Freese* și *J. H. Taylor* (1963).

## MITOZA

Perioada dintre două diviziuni succesive ale celulei se numește *interfază* sau *interchineză*. Durata ei variază la diferite specii între 10 și 20 ore și în acest timp cromozomii nu se disting în nucleu.

Diviziunea este precedată de o creștere a masei celulei. Deși creșterea celulei nu duce întotdeauna la o dublare a masei ei înainte de diviziune, fenomenul creșterii celulare ca preludiu al diviziunii este destul de răspîndit. S-au mai pus în evidență și alte procese care reprezintă prepararea diviziunii. Unul dintre acestea este dublarea cantității de A D N conținut în nucleu în perioada premergătoare mitozei. Acest fapt a fost semnalat de Y. Maruyama în 1956 și de D. B. M. Scott și E. Chu în 1959. Ei au constatat o periodicitate a sintezei A D N în populații de bacterii care se divid sincronizat. Fenomenul sintezei sporite a A D N la sfîrșitul interfazei a fost probat și prin experiențele de tipul celor efectuate de J. H. Taylor și colaboratorii săi, care arată că principala cale de acțiune a substanțelor mitostatice ce împiedică diviziunea celulară, este tocmai inhibarea sintezei A D N-ului. La celulele care nu intră în diviziune nu s-a observat intensificarea sintezei A D N-ului.

Diviziunea este, de asemenea, precedată de replicarea centriolului. În celulele animale *centriolul* este o formațiune care joacă un rol important pentru aparatul mitotic (fusul nuclear), întrucît îndeplinește funcția celor doi poli spre care migrează cromozomii. Centriolul este de regulă format din doi corpusculi cilindrici lungi de 0,3—0,5μ și aproximativ 0,15 μ în diametru, plasați în unghi drept unul față de altul. Autoreplicarea centriolilor precede cu mult începutul diviziunii. În celulele vegetale nu s-a semnalat prezența unor formațiuni similare centriolului. Tot în faza pregătitoare a mitozei se realizează o creștere a sintezei proteinelor specifice care participă la asamblarea aparatului mitotic, precum și acumularea unor substanțe energetice necesare consumului sporit de energie din cursul diviziunii.

Prima fază a mitozei este *profaza*, în care cromozomii încep să se distingă tot mai bine. La început în nucleu apar niște filamente fine și alungite, care se încolăcesc, formînd un ghem sau *spirem*. După aceea, filamentul care formează spiremul se scurtează și se condensează astfel încît cromozomii se individualizează tot mai bine, iar prin dizolvarea membranei nucleului ei devin liberi în citoplasmă. Fiecare cromozom este

Scanned with OKEN Scanner

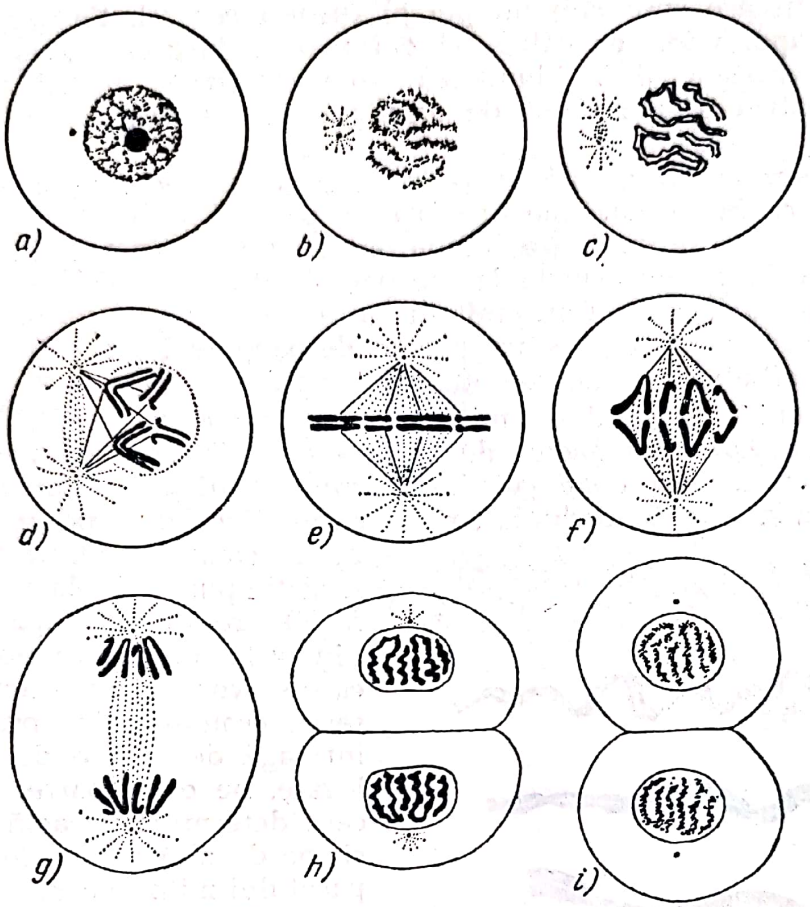



Fig. 18. Diviziunea mitotică la celula animală (a) : profaza (b, c), metafaza (d, e), anafaza (f, g), telofaza și plasmodiereza (h, i) (după *Kühn*, 1961).

format din două benzi paralele sau încolăcite, numite *cromatide*. La sfîrșitul profazei se formează în celulă o structură specială, numită *fus nuclear, fus central, fus filamentos* sau *fus acromatic*.

În faza următoare, numită *metafază*, cromozomii care pînă acum erau liberi în citoplasmă se inserează pe fibrele fusului central, fiecare într-un loc anumit numit *punct de inserție*, dispunîndu-se într-un singur plan la mijlocul fusului, formînd astfel *placa ecuatorială*. Fiecare cromozom prins în regiunea centromerului de fusul central prezintă două brațe egale sau inegale, alcătuite din cîte două jumătăți suprapuse. Pentru cercetările citologice această fază are o mare importanță deoarece cromozomii se pot colora ușor, sînt bine individualizați și pot fi nu numai numărați, dar și studiați din punct de vedere morfologic.

Cea de-a treia fază a diviziunii, numită *anafază*, se caracterizează prin dedublarea centromerului și separarea celor două cromatide ale fiecărui cromozom, astfel că ele devin cromozomi independenți, care se

îndreaptă fiecare spre cîte un pol al fusului central. Separarea cromatidelor și apoi mișcarea către cei doi poli ai fusului central începe în regiunea centromerului. Ajungerea cromozomilor-fii la cei doi poli ai fusului central este grăbită de strangularea fusului central la mijlocul său.

Cromozomii-fii ajunși la poli încep să recapete aspectul de filamente din ce în ce mai fine în cea de-a patra fază a diviziunii — telofaza. În această ultimă fază, cromozomii se transformă în sens invers decît în profază, contururile lor dispar și în jurul nucleului se reface membrana nucleară. Concomitent are loc *citodiereza* sau *citomia* prin care se formează un perete despărțitor între celulele-fiice, și din celula inițială se formează două celule noi.

În esență, procesul de mitoză presupune două condiții esențiale : *replicația cromozomilor*, adică dublarea garniturii cromozomice existente, și *deplasarea acestor două garnituri spre cei doi poli diferiți ai celulei în diviziune*. Dacă dedublarea cromozomilor nu ridică probleme prea complicate întrucît într-o fază timpurie (de la sfîrșitul profazei) cromozomii apar formați din cele două cromatide surori care se vor separa ulterior, deplasarea cromozomilor pune o serie întreagă de semne de întrebare legate, pe de o parte, de cauzele care determină această deplasare, și, pe de altă parte, de natura aparatului mitotic care joacă un rol esențial în citochineză. Deplasarea cromozomilor spre cei doi poli se face cu respectarea strictă a unei reguli : din fiecare pereche de cromozomi (proveniți prin separarea cromatidelor surori), unul va migra la un pol și celălalt la polul opus. În acest fenomen joacă un rol extrem de important atît centromerul cît și constituția aparatului mitotic. Fusul nuclear a fost descris ca un gel, ca un corp cu o elasticitate accentuată, alcătuit din filamente asemănătoare unor fibre. Pînă în momentul de față este clar faptul că fiecare cromozom se plasează în metafază, ancorîndu-se în regiunea centromerului de o „fibră" a aparatului mitotic.

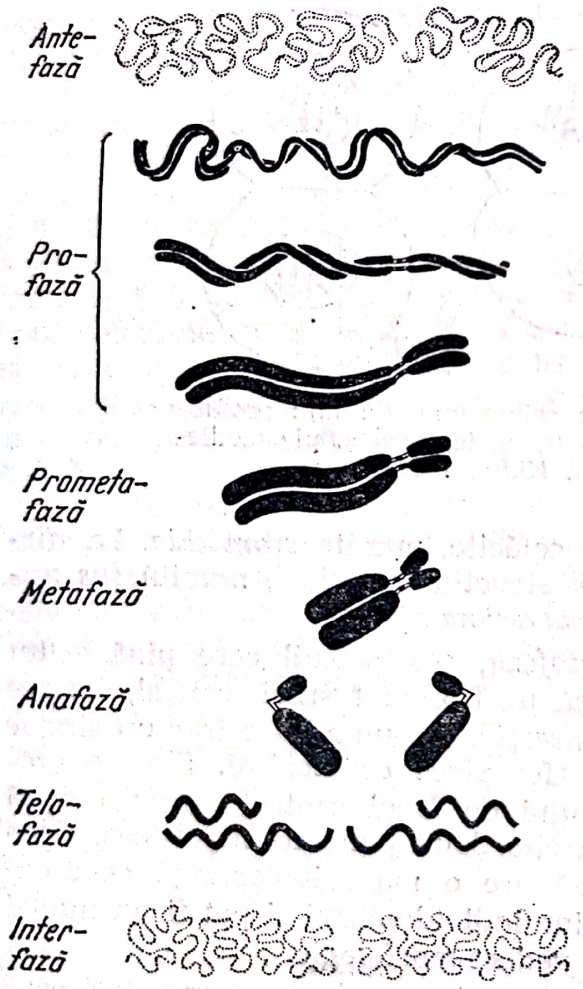



Fig. 19. Reprezentarea schematică a mitozei la un singur cromozom (după *Kuyper*, 1962).

Scanned with OKEN Scanner

*a* *b* *c*

*d* *e* *f*

Fig. 20. Diviziunea mitotică la *Allium cepa* (2 *n* = 16): profază timpurie (a) și tîrzie (b), metafază (c și d), anafază timpurie (e) și tîrzie (f) (original).

Scanned with OKEN Scanner

Ce determină deplasarea cromozomilor spre cei doi poli cu viteza (măsurată la microscopul cu contrast de fază) de aproximativ un micron pe minut ? Referitor la această problemă s-au emis o serie de ipoteze. Una dintre ele susține că între cei doi poli se creează o stare de tensiune căreia îi sînt supuse cele două cromatide perechi ce sfîrșesc prin a migra fiecare spre polul opus. Conform unei alte ipoteze (R. M. Iverson, R. C. Chaffee, D. Mazia, 1961) fusul nuclear n-ar fi altceva decît un sistem de proteine contractile asemenea celor musculare și care ar reacționa specific sub influența unei enzime active care descompune molecula de A T P.

Diviziunea mitotică durează între o jumătate de oră și trei ore, diversele faze ale mitozei desfășurîndu-se într-un timp diferit. P. Raicu și colab. (1964) studiind pe cale indirectă durata diferitelor faze ale mitozei la *Allium cepa* și *Secale cereale* au constatat că la temperatura camerei timpul mitotic la ceapă este de 87 minute și la secară de 81 minute, durata diverselor faze ale mitozei fiind următoarea :

| Speciile | Durata diferitelor faze, în minute | | | | Timpul total al diviziunii în minute |
|---|---|---|---|---|---|
| | profază | metafază | anafază | telofază | |
| *Allium cepa* | 45 | 17 | 3 | 17 | 87 |
| *Secale cereale* | 51 | 18 | 3 | 9 | 81 |

O serie întreagă de substanțe pot influența diviziunea celulară, ele împărțindu-se în două grupe principale : acelea care stimulează diviziunea și cele care o împiedică.

*Blocarea diviziunii celulare* se poate realiza pe mai multe căi : prin oprirea sintezei A D N-ului, prin împiedicarea creșterii celulei în interfază, prin blocarea declanșării mitozei (fluorizii, iodacetatul, cloracetofenona au o astfel de acțiune), prin inhibarea formării aparatului mitotic (acțiunea tipică a colchicinei) sau prin afectarea aparatului cromozomic, ceea ce duce la apariția aberațiilor cromozomiale și mitotice cu repercusiuni importante în transmiterea caracterelor ereditare. Acțiunea colchicinei și altor substanțe așa-numite *statmocinetice*, concretizate prin lipsa formării fusului nuclear și deci rămînerea cromozomilor în aceeași celulă în număr dublu este utilizată în genetică pentru crearea formelor poliploide și pentru determinările curente privind numărul de cromozomi al diverselor specii întrucît în metafazele statmocinetice cromozomii apar bine separați unii de alții, liberi în toată citoplasma celulei și pot fi numărați și analizați cu ușurință.

*Aberațiile mitotice și cromozomiale* provocate de diferite substanțe chimice și de radiațiile ionizante se concretizează prin afectarea tuturor fazelor diviziunii : apariția unor *metafaze anormale* în care cromozomii

devin lipicioși (așa-numita stare de *picnoză),* a *punților cromatice* în anafaze și telofaze, a *cromozomilor întîrziați* (retardatari) în placa ecuatorială a fusului nuclear, a *translocațiilor* etc.

*Stimularea diviziunii celulare* se poate realiza prin grăbirea ritmului de diviziune normală a celulelor sau prin antrenarea în diviziune a celulelor care de obicei nu se mai divid. Dintre factorii care stimulează diviziunea celulară, un rol important îl joacă temperatura, capabilă să grăbească mitoza și să antreneze un număr mai mare de celule în diviziunea celulară. Un interes deosebit prezintă și hormonii, atît vegetali (de tipul auxinelor, heteroauxinelor și giberelinei) cît și o serie de hormoni animali care intervin în anumite situații critice ale organismului în care diviziunea unor celule este blocată. Se pare că asemenea hormoni își aduc contribuția în procesul de restabilire a ritmului normal de diviziune și a mitozelor normale după ce s-a provocat blocarea lor prin colchicină, radiații ionizante și alți factori. Ei intră în constituția ansamblului de fenomene care tind să restaureze echilibrul deranjat al organismului, intervin în procesele de regenerare etc.

## MEIOZA

Un tip special de diviziune celulară este *meioza* sau *diviziunea de reducere cromozomială.* Ea se petrece în procesul de formare a gameților femeli și masculi (ovogeneză și spermatogeneză) cu un număr simplu *(n)* de cromozomi (redus la jumătate). Deși meioza este alcătuită în linii mari din aceleași faze ca și mitoza, totuși între ele există unele deosebiri importante. Meioza constă din două diviziuni succesive, una denumită *heterotipică,* deoarece se pornește de la o celulă diploidă *(2 n)* și se formează două celule haploide *(n),* și cea de-a doua este o diviziune de maturație, *homotipică,* prin care din două celule haploide *(n)* se formează patru celule haploide *(n).*

Prima diviziune meiotică are, de asemenea, cele patru faze cunoscute ale mitozei, și anume : *profaza, metafaza, anafaza și telofaza. Profaza I* este mai complicată, în decursul ei manifestîndu-se așa-numitele *fenomene sinaptice.* Cromozomii apar la început sub forma unor filamente fine alcătuind stadiul de *leptonem.* Ei se alătură doi cîte doi, împletindu-se unul în jurul celuilalt, formînd stadiul de *zigonem,* după care ei suferă un proces de concentrare la un pol al nucleului, alcătuind stadiul de *sinapsis.* Perechile de cromozomi suferă apoi un proces de îngroșare, legătura dintre cei doi cromozomi ai fiecărei perechi devenind tot mai intimă și de aceea au primit numele de *gemeni cromozomiali* sau *cromozomi bivalenți.* Stadiul în care cromozomii sînt bivalenți și în număr haploid se numește *pachinem.* În continuare cromozomii fiecărei perechi se separă și se depărtează unul de altul, avînd loc un proces de apariție a celor două cromatide care alcătuiesc fiecare cromozom. Astfel, în fiecare pereche de cromozomi se află în total patru cromatide,

Scanned with OKEN Scanner

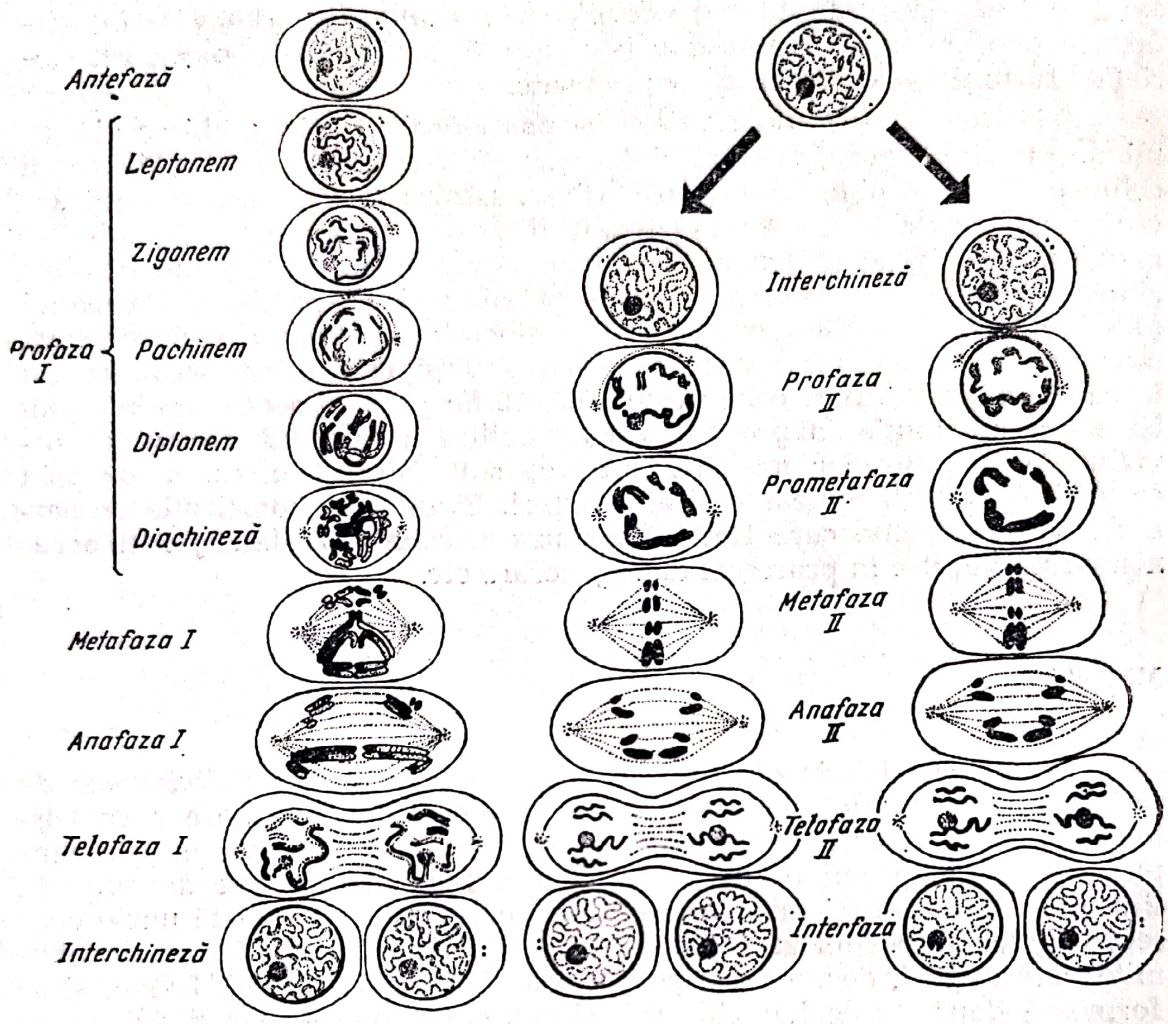



Fig. 21. Fazele diviziunii reducționale (meioza).

iar faza respectivă se numește *diplonem*. Deși cromozomii fiecărei perechi se îndepărtează unul de altul, ei rămîn încă uniți în cîteva puncte în care cele două cromatide ale fiecărui cromozom se ating. Aceste puncte de contact se numesc *chiasme*. Urmează apoi o condensare puternică a fiecărui cromozom și în același timp o dispersare a lor în sfera nucleului, faza respectivă numindu-se *diachineză*.

După aceasta cromozomii bivalenți se grupează în placa ecuatorială a fusului central, constituind *metafaza I*. Pentru cercetările de citogenetică, această fază prezintă mare importanță, deoarece cromozomii se pot colora foarte intens, și datorită unirii lor doi cîte doi (bivalenți) pot fi observați cu ușurință, numărul lor fiind redus la jumătate.

În faza următoare, *anafaza I*, cromozomii fiecărei perechi se separă, îndepărtîndu-se unul spre un pol și altul spre celălalt pol al fusului nuclear. Diviziunea de reducere cromozomială se termină prin *telofaza I* în care are loc un proces de dispariție al cromozomilor ajunși

la poli şi de refacere a nucleilor-fii, fiecare avînd însă un număr haploid de cromozomi. Prin fenomenul de *plasmodiereză* are loc separarea celor două celule haploide care alcătuiesc o diadă.

Urmează o a doua diviziune de maturaţie, care este însă o mitoză obişnuită prin care cele două celule-fiice se mai divid încă o dată. În *profaza II* cromozomii încep să devină vizibili, se individualizează şi apar liberi în citoplasmă. Apoi, în *metafaza II* are loc un proces de plasare a cromozomilor în placa ecuatorială, după care în *anafaza II* fiecare cromozom se separă în două cromatide, care devin cromozomi independenţi şi se îndreaptă spre cei doi poli ai fusului nuclear. În sfîrşit, în *telofaza II* are loc procesul cunoscut de dispariţie a cromozomilor şi de refacere a nucleilor-fii. Astfel, dintr-o *diadă* alcătuită din două celule haploide, în urma diviziunii mitotice paralele a acestora se formează patru celule haploide, care alcătuiesc o tetradă, după care cele patru celule ale tetradei se transformă în gameţi.

Aceasta este schema generală a diviziunii reducţionale (meioză), valabilă atît pentru plante cît şi pentru animale.

La animale în *spermatogeneză*, meioza are loc în *spermatocitele de ordinul I*, iar cea de-a doua diviziune de maturaţie în *spermatocitele de ordinul II*. Prin diviziunea spermatocitelor de ordinul II apar spermatidele. Aşadar dintr-o spermatocită de ordinul I diploidă se formează 2 spermatocide de ordinul II haploide şi apoi 4 *spermatide* tot haploide. Fiecare spermatidă se transformă într-un *spermatozoid* printr-un proces

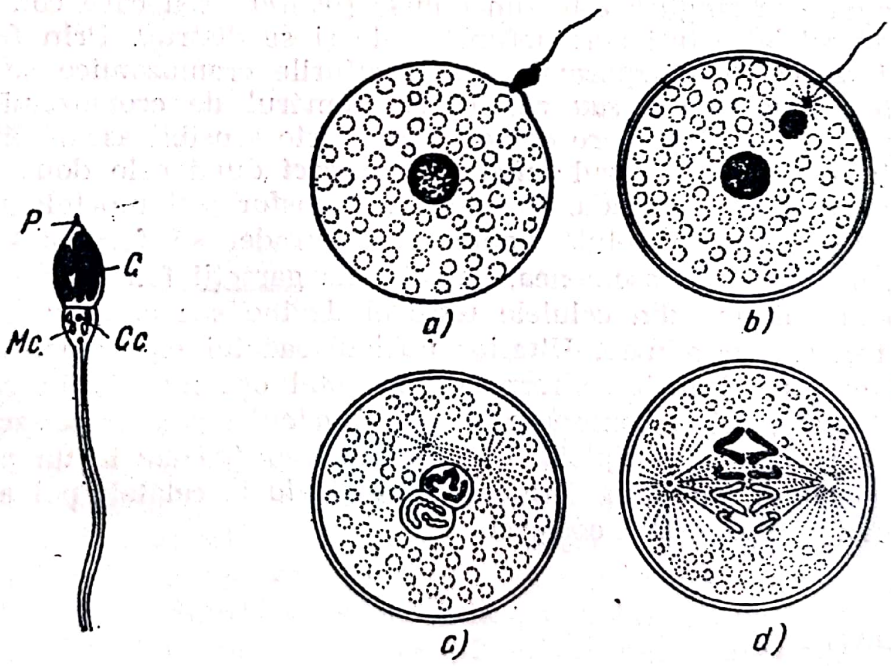



Fig. 22. Schema alcătuirii unui spermatozoid (stînga) : cromozomi (c), mitocondrii (Mc), corpul central (C c) şi perforator (p). Fecundaţia la animale (dreapta) : pătrunderea spermatozoidului în ovulă (a şi b), fecundarea propriu-zisă (c) şi prima diviziune a embrionului (d) (după *Kühn*, 1961).

numit *spermiogeneză,* căpătînd forma şi aspectul caracteristic al spermatozoizilor fiecărei specii de animal.

*Ovogeneza* prezintă nişte deosebiri faţă de spermatogeneză, nu în privinţa mecanismului cromozomial, ci datorită specificului celulei sexuale feminine, care conţine o cantitate mare de substanţe hrănitoare pe care le acumulează mai ales în decursul acestui proces, substanţe care în urma diviziunii nu se repartizează egal în cele două celule rezultate. *Ovocita de ordinul I* în care are loc prima diviziune meiotică are o perioadă îndelungată de evoluţie, în care timp îşi măreşte mult volumul datorită acumulării unei cantităţi mari de *vitelus* în citoplasmă. La sfîrşitul perioadei de *vitelogeneză,* nucleul ovocitei de ordinul I migrează spre periferia celulei şi intră în diviziune. După trecerea tuturor fazelor primei diviziuni reducţionale iau naştere două *ovocite de ordinul II* complet inegale una extrem de mică, cu puţină citoplasmă şi fără vitelus, numită *globul polar,* şi alta mare, conţinînd tot vitelusul elaborat în faza anterioară. Ca material nuclear însă, cele două celule sînt egale, şi anume ambele sînt haploide, conţinînd numărul de cromozomi redus la jumătate. Prin cea de-a doua diviziune *ovocita mare de ordinul II* se divide în două celule inegale : *o ovotidă* enormă care conţine tot vitelusul şi alt *globul polar,* ambele haploide. Uneori globulul polar rezultat din prima diviziune poate suferi şi a doua diviziune de maturaţie, dînd naştere la alţi doi globuli polari. Aşadar, în ovogeneză rezultatul celor două diviziuni meiotice este apariţia a 4 celule haploide, dintre care însă numai una singură este funcţională *(ovulul),* cea care conţine vitelusul, iar celelalte trei sînt nefuncţionale şi se distrug. Prin fecundaţia ovulului de către un spermatozoid garniturile cromozomice se completează, formîndu-se *oul sau zigotul* cu numărul de cromozomi diploid.

La plantele superioare *gametogeneza* este sensibil asemănătoare celei de la animale. În cazul *microsporogenezei* după cele două diviziuni meiotice ia naştere tetrada. Prin cîteva transformări morfologice şi fiziologice din fiecare celulă haploidă a tetradei se formează cîte un *grăunte de polen,* de asemenea, haploid. La gameţii femeli *(macrosporogeneza)* numai una din celulele tetradei devine sac embrionar, iar celelalte trei sînt eliminate. Ulterior nucleul sacului embrionar se divide de trei ori, astfel încît se formează în total opt nuclei din care unul devine *oosferă,* doi se contopesc formînd *nucleul secundar al sacului embrionar* care este deci diploid, trei formează *antipodele* la un pol al sacului embrionar, iar două formează *sinergidele* la celălalt pol al sacului embrionar, în vecinătatea oosferei.

## FECUNDAŢIA

Atît la plante cît şi la animale fecundaţia constă în unirea celor doi gameţi de sexe diferite, proces care mai poartă numele şi de *singamie.* În timp ce meioza reduce numărul de cromozomi de la starea di-

Scanned with OKEN Scanner

ploidă la cea haploidă, prin fecundație sau singamie se formează *zigotul* care are un număr diploid de cromozomi.

La animale fecundația constă în pătrunderea unui spermatozoid în ovul; citoplasma spermatozoidului se amestecă cu cea a ovulului, în timp ce capul spermatozoidului se umflă devenind sferic și egal în dimensiuni cu nucleul ovulului. Se petrece apoi un proces de dizolvare a membranei celor doi nuclei, cromozomii materni *(n)* și paterni *(n)* așezîndu-se în placa metafizică a fusului nuclear format între timp, și începe astfel desfășurarea primei diviziuni de segmentare a zigotului diploid *(2 n)*.

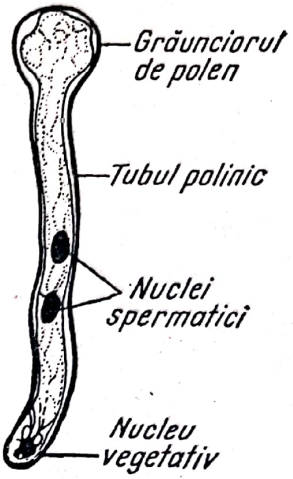



Fig. 23. Nucleul vegetativ și cei doi nuclei spermatici în grăunciorul de polen germinat.

La plantele superioare, în momentul polenizării, pe stigmatul matern, grăuntele de polen germinează, nucleul său divizîndu-se în doi nuclei : unul *generativ* și altul *vegetativ*. În momentul fecundării (așa numita *dublă fecundare* sau *dublă fertilizare*, fenomen descoperit în anul 1899 de botanistul rus S. G. Navașin), *nucleul generativ* al grăuntelui de polen *(n)* se divide încă o dată, formînd *doi nuclei spermatici*, din care unul se unește cu *oosfera (n)*, formînd oul sau *zigotul diploid (2 n)* din care prin diviziuni repetate ia naștere *embrionul*. Celălalt nucleu spermatic *(n)* se unește cu nucleul secundar al sacului embrionar care este diploid *(2 n)* și prin diviziuni repetate ia naștere *endospermul triploid (3 n)*.

## XENIA, METAXENIA, TELEGONIA ȘI FECUNDAȚIA POLISPERMICĂ

Datorită fenomenului de dublă fecundare, endospermul triploid de la plantele superioare conține două garnituri de cromozomi materni și o garnitură de cromozomi paterni. În felul acesta apar *xeniile*, prin care caracterele paterne se manifestă chiar în anul încrucișării ($F_0$) asupra endospermului semințelor de pe planta maternă. De pildă, prin polenizarea unei varietăți de porumb *(Zea mays)* cu boabe galbene caracter dominant (formă paternă) cu polen de la o varietate cu boabe albe caracter recesiv (formă maternă) apar pe știuleții materni boabe galbene, care constituie un caracter dominant. Desigur că în încrucișarea reciprocă fenomenul de xenie nu apare. Xeniile nu constau însă numai în schimbarea culorii boabelor, ci și în schimbarea formei, mărimii, greutății, compoziției chimice etc. a endospermului.

Scanned with OKEN Scanner

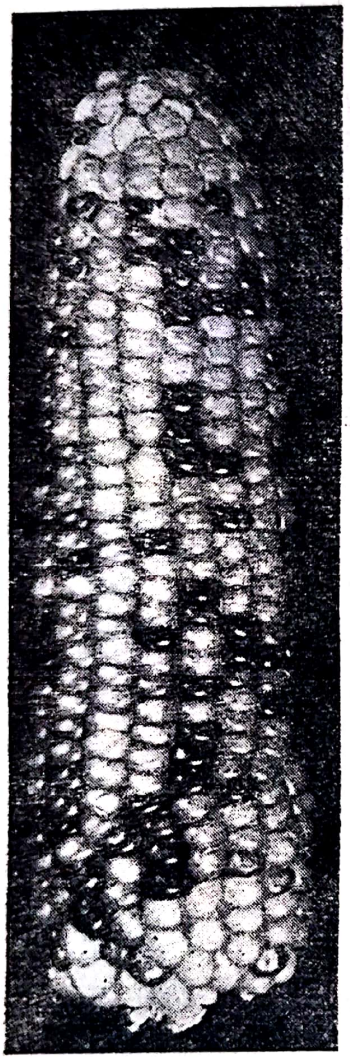


Fig. 24. Ştiulete de porumb cu xenii

*Metaxenia* sau *xenia de ordinul doi* este fenomenul prin care în urma fecundării se realizează o modificare secundară a fructului sub influenţa gameţilor paterni. Fenomenul a fost observat de R. W. Nixon (1928) şi W. T. Swingle (1931) la curmal, de B. R. Nebel şi Z. I. Kerstesz (1934) la măr, de O. N. Miatcovschi (1940) la păr, precum şi de I. V. Miciurin la piersic şi pepenele galben etc. Pînă în prezent nu s-a dat o explicaţie genetică satisfăcătoare acestui fenomen.

*Telegonia* este fenomenul de influenţare genetică a organismului matern de către polenul sau respectiv spermatozoizii genitorului patern. Ca urmare, în cazul încrucişării genitorului matern cu un alt genitor patern se manifestă influenţa primului reproducător asupra descendenţei.

Ch. Darwin (1859) a descris un caz celebru de telegonie observat la o iapă roibă a lordului Morton. Această iapă a fost încrucişată mai întîi cu un mascul quagga (din genul zebrei), care are corpul acoperit cu dungi la fel ca zebra, obţinîndu-se un hibrid. După aceea, iapa roibă a fost montată de un armăsar negru de rasă arabă, ea dînd naştere la doi mînji. Unul dintre mînji avea dungi pe picioare, iar celălalt dungi atît pe picioare cît şi pe gît şi pe alte părţi ale corpului, la fel ca masculul quagga care montase anterior iapa.

Cazuri de telegonie la animale au mai fost descrise în literatura de specialitate şi de alţi autori. Cercetările lui H. F. Kolbrughe (1941), D. I. Ghenin (1951), H. F. Kuşner (1949) etc. au arătat că influenţa reproducătorului mascul se realizează cu ajutorul spermatozoizilor care pătrund în număr mare în ţesuturile uterine ale organismului femel, unde ei sînt resorbiţi. Prin aceasta ei influenţează din punct de vedere genetic organismul matern. Pe baza cercetărilor actuale privind rolul genetic al acizilor nucleici şi în special a A D N în care spermatozoizii sînt foarte bogaţi, s-ar putea emite ipoteza că A D N-ul exogen transferă informaţia genetică proprie celulelor sau ţesuturilor înconjurătoare. Există însă unele cercetări care par să infirme existenţa fenomenului de telegonie, încît în acest domeniu sînt necesare studii suplimentare.

Scanned with OKEN Scanner

## FECUNDAȚIA POLISPERMICĂ

La plante și animale există cercetări care indică posibilitatea moștenirii concomitente a unor caractere ereditare de la mai multe forme paterne, în cazul fecundației cu un amestec de polen sau de spermă. Cercetările citologice ale lui *H. F. Kolbrughe* (1941) au arătat că la rechin, găină, liliac și iepure, numeroși spermatozoizi pătrund în mucoasa uterină, în ovulele fecundate și chiar în blastule. În mod similar la plante cercetările lui *I. E. Ellenhorn* și *V. V. Svatozareva* (1949), *P. Raicu, M. Radu* și *I. Popovici* (1963) etc. au demonstrat nu numai că mai multe grăuncioare de polen germinează concomitent pe stigmatul florii materne, dar chiar s-a remarcat pătrunderea mai multor tuburi polinice în sacul embrionar. Pe această bază se poate presupune că după ce fecundația are loc, adică se realizează unirea garniturilor cromozomiale ale genitorilor, are loc un transfer de informație genetică cromozomială sau necromozomială de la ceilalți gameți paterni la embrionul în curs de dezvoltare. Se pare deci că fecundația nu este numai unirea a 2 celule sexuale, ci este un proces mult mai complex. Desigur însă că sînt necesare cercetări în continuare pentru descoperirea mecanismului genetic al acestui fenomen.

## PARTENOGENEZA ȘI APOGAMIA

La unele specii de plante și animale, deși există organe sexuale și are loc formarea gameților, totuși lipsește procesul fecundării, astfel că embrionul se formează prin diviziunea unei celule sexuale haploide sau diploide.

*Partenogeneza* este fenomenul prin care se formează embrionul și, respectiv, organismul dintr-o oosferă nefecundată. Ea este de două feluri, și anume : *partenogeneză haploidă,* în care embrionul rezultă din diviziunea oosferei care a suferit procesul de diviziune de reducere cromozomală, astfel că are un număr haploid de cromozomi, și *partenogeneză diploidă,* în care embrionul se formează din oosfera la care nu a avut loc reducerea cromozomală, astfel că are număr diploid de cromozomi. Fenomenul partogenezei haploide a fost observat la plantele *Datura stramonium, Solanum nigrum, Nicotiana glutinosa* etc., iar partenogeneza diploidă la *Draba verna,* unele specii din genul *Taraxacum, Hieracium,* etc.

La animale partenogeneza se întîlnește la specii inferioare, mai ales la nevertebrate. Astfel unele specii de insecte *(Phasmide, Psychide, Otiorhynchus* etc.), de crustacei și de rotifere nu se înmulțesc decît pe cale partogenetică. La alte specii are loc o succesiune a generațiilor partenogenetice cu cele sexuale, partenogeneza avînd un caracter ciclic și sezonier. De pildă, la *Cinipide* (mici *Himenoptere)* are loc o succesiune

strictă între o generaţie partenogenetică şi una sexuată, iar la crustaceul *Daphnia* alternează mai multe generaţii partenogenetice în cursul verii cu una sexuată în cursul toamnei. La *Apis melifera* partenogeneza este legată de determinismul sexual, avînd un caracter facultativ : din ouăle fecundate ies femele (lucrătoarele şi matca), iar din cele nefecundate, masculii (trîntorii).

*Apogamia* este un fenomen similar partogenezei, ce se observă însă numai la plante, şi constă în aceea că embrionul se formează dintr-o altă celulă a sacului embrionar decît oosfera. Ca urmare, înmulţirea se realizează în absenţa fecundaţiei. După cum se ştie la plante există în sacul embrionar încă 5 nuclei haploizi (3 antipode şi 2 sinergide) din care se pot dezvolta organisme ce manifestă *apogamie haploidă*. Dacă embrionul provine dintr-o celulă diploidă a sacului embrionar sau vecină cu sacul embrionar, atunci avem de-a face cu *apogamie diploidă*. Numărul speciilor de plante ce se înmulţesc prin apogamie este foarte redus, printre acestea putînd fi citate : *Nephrodium pseudomas* var. *polydactylum, Alchemilla sericata, Celebogyne ilicifolia* etc.

Partogeneza şi apogamia constituie fenomene intermediare între înmulţirea sexuată şi cea asexuată, deoarece noile organisme se formează în absenţa fecundaţiei, însă din celule sexuale.

## ÎNMULŢIREA ASEXUATĂ SAU VEGETATIVĂ

În natură există o seamă de specii de plante şi animale inferioare care se reproduc asexuat sau vegetativ, din celule şi organe specializate sau nespecializate. Absenţa diviziunii de reducere cromozomală (meioza) şi a fenomenului fecundaţiei la aceste organisme are implicaţii genetice foarte importante. Astfel, după cum se ştie, în cazul fecundaţiei, unindu-se două celule haploide cu număr redus de cromozomi *(n)*, se formează zigotul diploid (2 *n)* din care rezultă embrionul şi respectiv noul organism. Datorită meiozei şi fecundaţiei există mari posibilităţi de combinare a genelor şi respectiv a cromozomilor materni şi paterni, fapt pentru care în cazul reproducerii sexuate nu se obţin niciodată doi descendenţi identici, cu excepţia gemenilor monozigoţi. Dimpotrivă, la speciile ce se înmulţesc asexuat, datorită absenţei meiozei şi fecundaţiei, descendenţii sînt identici cu organismul din care provin printr-un proces de diviziune celulară mitotică. Aceasta nu înseamnă că la organismele ce se reproduc vegetativ nu pot să apară variaţii ereditare. În cursul diviziunii mitotice au loc din cînd în cînd unele „erori" în replicaţia cromozomilor, din care rezultă celule şi respectiv organe modificate ereditar. Dacă aceste celule sau organe sînt folosite la reproducerea vegetativă, rezultă organisme diferite ereditar de ascendenţi. Acesta este fenomenul de *mutaţie somatică*.

Scanned with OKEN Scanner

## CICLUL DE VIAȚĂ AL ORGANISMELOR

Ereditatea poate fi considerată în ultimă analiză drept capacitatea organismelor de autoreproducere. Materia vie ia naștere exclusiv din materie vie, datorită capacității acesteia de autoreproducere. Ca urmare, ereditatea este o însușire fundamentală a materiei vii, fără de care însăși existența vieții pe pămînt ar fi imposibilă.

Organismele, cu excepția virusurilor, sînt alcătuite din celule. De aceea în procesul de diviziune celulară mitotică și meiotică se realizează procesul autoreproducerii materiei vii și respectiv transmiterea ereditară. Totalitatea proceselor prin care organismele dau naștere altora similare cu ele alcătuiesc *ciclul de viață* al lor.

### CICLUL DE VIAȚĂ AL PLANTELOR ȘI ANIMALELOR SUPERIOARE

La animalele ce se înmulțesc pe cale sexuată, ciclul de viață începe cu celula-ou sau zigotul ce ia naștere în urma fecundării. Prin diviziuni mitotice succesive din zigot se formează embrionul și respectiv noul organism, care este format exclusiv din celule diploide (2 *n*). La un moment dat, prin diviziuni reducționale (meiotice), organismul formează celule sexuale sau gameți masculi și femeli care sînt haploide *(n)*, avînd un număr de cromozomi redus la jumătate. În urma fecundației prin care se unesc două celule sexuale haploide se formează zigotul diploid și cu acesta se încheie și respectiv începe un nou ciclu de viață.

La animalele ce se înmulțesc sexuat, ciclul de viață poate fi reprezentat pe scurt astfel : zigot *(2 n)* → organism *(2 n)* → gameți *(n)* → zigot *(2 n)*. Formarea gameților (spermatozoizi și ovule) se realizează direct prin diviziune meiotică.

Spre deosebire de animale, la plantele superioare are loc o alternanță regulată între o generație sexuată și una asexuată. Astfel, zigotul dă naștere plantei diploide *sporofitul*, care prin diviziuni reducționale (meiotice) formează spori haploizi, care dau naștere fiecare unui *gametofit* capabil să producă gameți. La angiosperme generația gametofitică este foarte redusă în timp și spațiu. De pildă, la porumb gametofitul femel este produs prin trei diviziuni succesive ale megasporului care dau naștere celor opt nuclei haploizi ai sacului embrionar, din care unul este oosfera. Gametofitul mascul este reprezentat de grăunciorul de

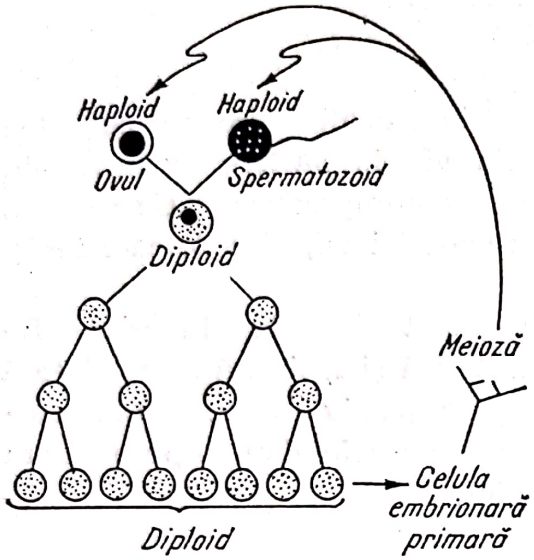



Fig. 25. Ciclul de viață al animalelor superioare (după Wagner și Mitchell, 1964).

polen și respectiv tubul polinic ce conține 3 nuclei haploizi din care 2 nuclei spermatici (gameți) și unul vegetativ. La plantele superioare are loc fenomenul dublei fecundări prin care un nucleu spermatic se unește cu oosfera și dă naștere zigotului diploid (2 *n*), iar celălalt nucleu spermatic se unește cu nucleii polari ai sacului embrionar, ce au fuzionat și au devenit nucleu diploid, dînd naștere endospermului triploid (3 *n*), cu rol de nutriție pentru embrion.

Ciclul de viață al plantelor superioare ce se reproduc sexuat poate fi prezentat schematic astfel :

zigot (2 *n*) → sporofit (2 *n*) → spori (*n*) → gametofit (*n*) → gameți (*n*) → zigot (2 *n*).

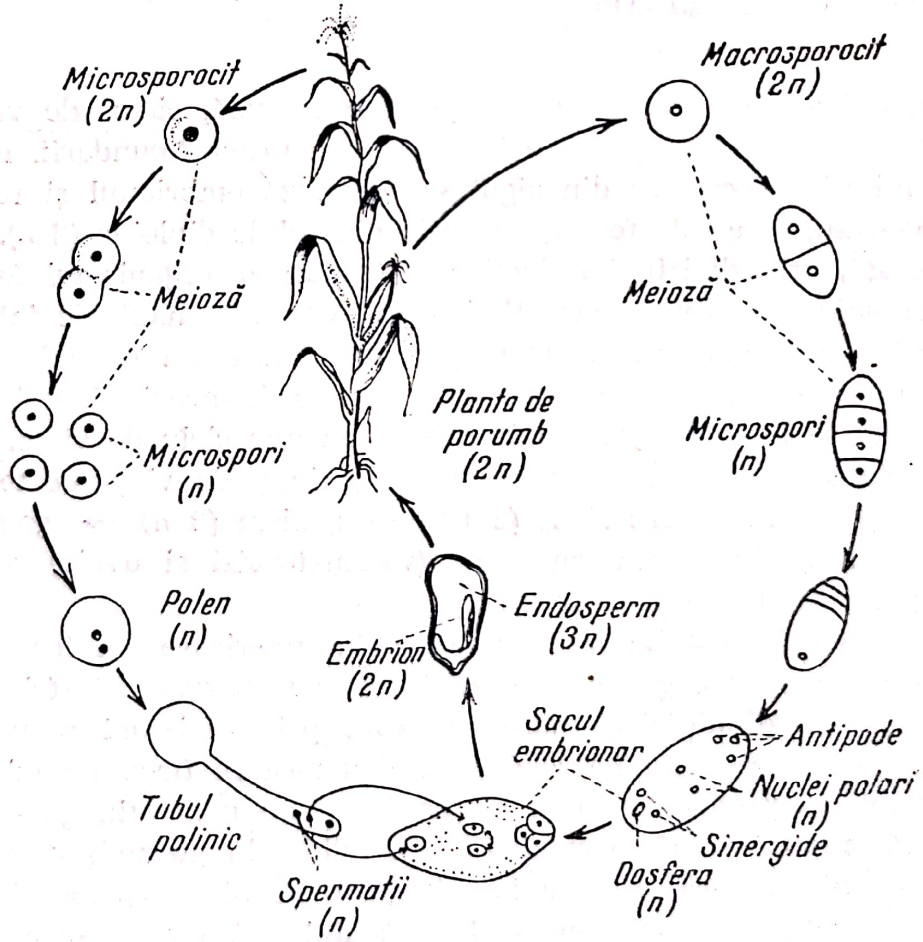



Fig. 26. Ciclul de viață al unei plante de porumb.

## NEUROSPORA CRASSA ȘI BOMBARDIA LUNATA

La unele specii inferioare de plante, ciclul de viață este diferit, predominînd faza haploidă, iar cea diploidă este foarte scurtă. De pildă, la ascomiceta *Neurospora crassa*, ce are un ciclu de viață foarte scurt, diplofaza este reprezentată numai de zigot și spre deosebire de ceea ce se întîmplă la plantele și animalele superioare, meioza are loc după fecundare și ea duce la formarea ascosporilor haploizi.

*Neurospora crassa* este o ciupercă microscopică ce se reproduce atît asexuat cît și sexuat, fapt care prezintă o seamă de avantaje din punct de vedere genetic. Asexuat reproducerea se poate realiza fie prin *segmentarea miceliului*, fie prin intermediul sporilor haploizi denumiți *conidii*. Reproducerea sexuată se realizează cu ajutorul zigotului diploid. Miceliul acestei ciuperci este alcătuit din filamente haploide de două tipuri (+) și (—) (sau *A* și *a*) care nu se deosebesc morfologic, dar se comportă ca sexe diferite în reproducerea sexuată. Pe fiecare tip de miceliu se dezvoltă atît niște *protoperiticii* care conțin un *ascogon* (element femel), prevăzut cu filamente receptoare, cît și niște *conidii* uninucleate, care servesc fie la reproducerea vegetativă, fie ca elemente masculе. În momentul reproducerii sexuate, elementele mascule (conidiile) de la un miceliu migrează pe filamentele receptoare ale celuilalt miceliu

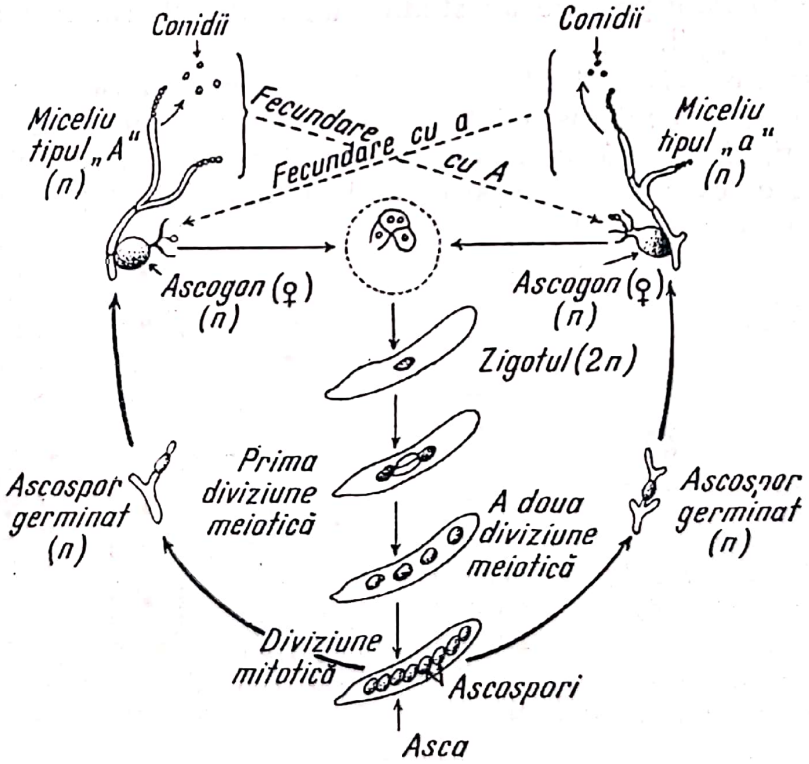



Fig. 27 Ciclul de viață al ciupercii *Neurospora crassa*.

și se unesc cu ascogonul tipului opus de miceliu. Așadar, ambele tipuri de miceliu sînt hermafrodite și autosterile. Deoarece sînt produse de miceliul haploid, atît conidiile cît și ascogonul conțin un număr haploid de cromozomi ($n = 7$). Din unirea lor rezultă o celulă care are un nucleu diploid ($2n = 14$) cu jumătate din garnitura cromozomică provenită de la miceliul *A* și cealaltă jumătate de la miceliul *a*. Acești zigoți se dezvoltă apoi în interiorul unor fructificații numite *peritecii*, de forma unor mici butelii negre. În interiorul periteciului se dezvoltă *ascele* rezultate din zigoții diploizi. Nucleul diploid intră imediat în diviziunea de reducere cromozomială, meioza constînd dintr-o diviziune heterotipică urmată de o diviziune homotipică întocmai ca la organismele superioare. Ca urmare, din zigotul diploid se formează 4 nuclei haploizi, ce suferă din nou o diviziune mitotică, astfel încît în final iau naștere 8 nuclei haploizi, care se transformă în *ascospori*. Cei 8 ascospori sînt așezați în interiorul unui sac strîmt în șir lung (*tandem*) și își păstrează poziția în timpul diviziunilor succesive. Cei 8 ascospori se pot izola sub microscop și se pot cultiva individual, urmărindu-se transmiterea caracterelor și constituția genetică a fiecărui gamet. Spre deosebire de alte tipuri de organisme, la *Neurospora* nu avem de-a face cu patru produși ai meiozei, ci cu opt, în care de fapt fiecare din cei patru produși meiotici este reprezentat prin două exemplare (1 și 2 ; 3 și 4 ; 5 și 6 ; 7 și 8). Păstrarea ordinii ascosporilor în ască și existența a cîte doi indivizi din fiecare produs meiotic permite un studiu amănunțit al transmiterii caracterelor și al segregării.

Un ciclu de viață similar îl are și pirenomiceta *Bombardia lunata*. La această ciupercă microscopică există două tipuri morfologice distincte, și anume : tipul *sălbatic* care are ascosporii negri și miceliul pigmentat și tipul *lactea* care are ascosporii albi și miceliul nepigmentat. Prin

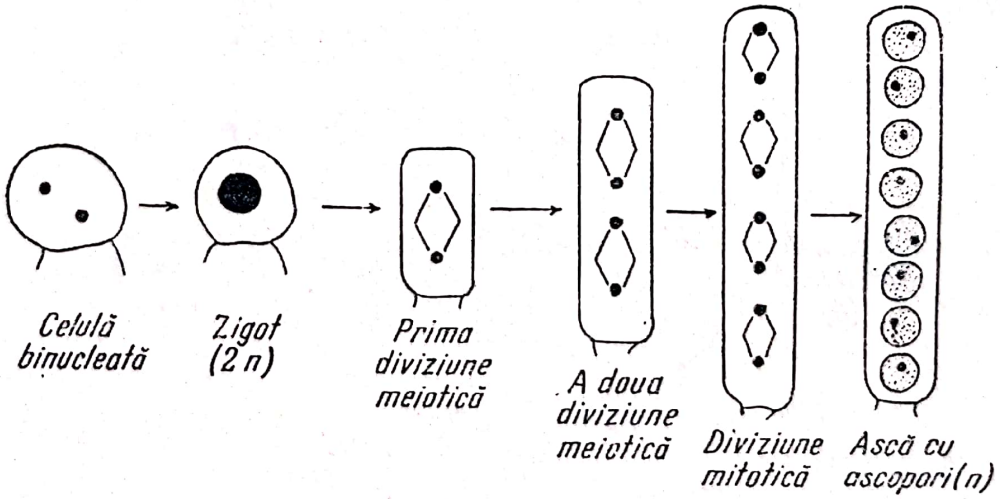



Fig. 28 a. Cele 3 diviziuni celulare prin care din zigot se formează asca cu 8 ascospori la *Neurospora crassa*.

încrucișarea celor două tipuri este posibil studiul segregării care prezintă anumite particularități. Astfel, în primul rînd, trebuie arătat că ascosporii fiind haploizi ei nu moștenesc potențialitățile ereditare decît ale unui genitor și, în al doilea rînd, în fiecare ască apar patru ascospori de tipul unui genitor și patru ascospori de tipul celuilalt. Segregarea poate avea loc în momentul diferitelor diviziuni care alcătuiesc meioza. Astfel, dacă segregarea are loc în cursul diviziunii heterotipice, atunci procesul se cheamă *prereducere* și ascosporii se grupează cîte patru în partea de sus sau de jos a ascei, astfel că iau naștere două tipuri de asce. În cazul că segregarea are loc în cursul diviziunii homotipice, procesul se cheamă *postreducere* și ascosporii se grupează cîte doi în fiecare jumătate de ască, astfel că se realizează 4 tipuri de asce. Cele 6 tipuri de asce apărute în urma segregării au aceeași frecvență, astfel că prereducerea reprezintă 33,33%, iar postreducerea 66,67%.

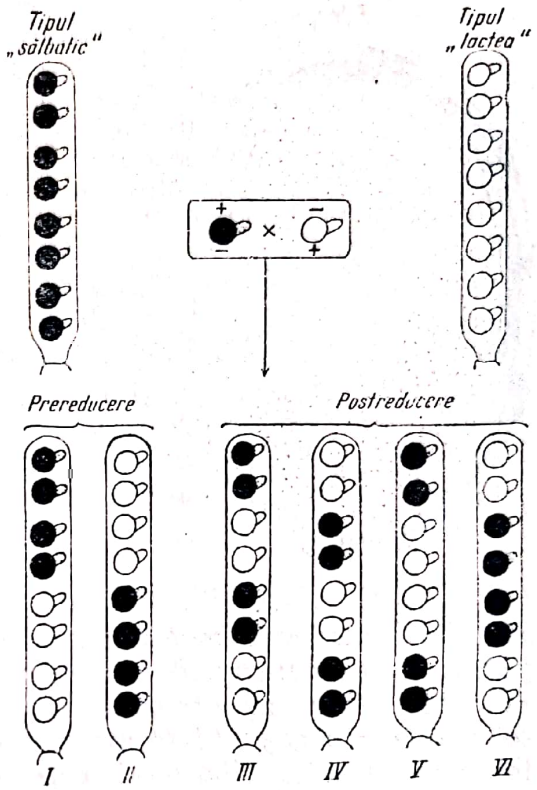



Fig. 28 b. Segregarea la *Bombardia lunata*.

*Nevrospora crassa* și *Bombardia lunata* prezintă interes deosebit din punct de vedere genetic, în primul rînd, pentru că *haplofaza* poate fi studiată, *diplofaza* fiind extrem de scurtă, și, în al doilea rînd, pentru că, contrar a ceea ce se întîmplă la plantele și animalele superioare, la aceste ciuperci are loc întîi fecundarea și apoi meioza, iar ascosporii rezultați pot fi studiați individual. De asemenea, există posibilitatea, datorită păstrării ordinii ascosporilor în ască, pentru determinarea precisă a momentului segregării.

## BACTERIILE

Un obiect important de cercetare al geneticii moderne îl constituie bacteriile, datorită unor cauze multiple. Dezvoltarea cercetărilor privind ereditatea la bacterii a dus chiar la constituirea unei ramuri importante a geneticii, și anume *genetica bacteriană* .

Celula bacteriană este alcătuită dintr-o *masă protoplasmatică* densă, în care există unul sau mai multe locuri cu densitate mai redusă și care

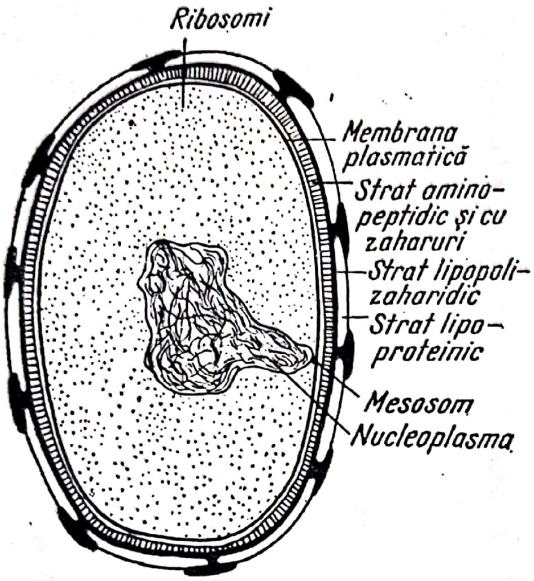



Fig. 29. Celula bacteriană (după *Braun*, 1965).

alcătuiesc *nucleoplasma* sau *nucleoizii.* Masa protoplasmatică este înconjurată de o *membrană citoplasmatică,* care la rîndul ei este prevăzută la exterior cu un *perete celular rigid,* de care în cazul unor bacterii se atașează o *capsulă* formată din polizaharide sau polipeptide. În protoplasmă se află *ribozomii,* care au aproximativ 180 Å în diametru și care constituie locuri de sinteză a proteinelor. De asemenea, în celula bacteriană există *mezozomii,* apăruți prin învaginarea membranei celulare și în care există, la fel ca și în membrană, numeroase enzime.

La bacterii nucleoizii sînt Feulgen pozitivi, fiind bogați în ADN. În nucleoizi nu există cromozomi, ci structuri similare funcțional cromozomilor de la organismele superioare. Cercetările privind transferul genetic la bacterii, precum și cele efectuate prin metoda microradioautografiei au dus la concluzia că structura denumită *cromozom bacterian* are o formă circulară, fiind alcătuit în principal din A D N dublu catenar cu o lungime foarte mare (700—900 μ).

La celulele bacteriene există mai multe mecanisme de reproducere, și anume : *reproducere vegetativă* (asexuată), care constă într-o simplă diviziune ce are loc după replicația ADN din nucleoizi, *reproducere prin spori,* care este, de asemenea, vegetativă, și *reproducere sexuată,* prin care se realizează un transfer de material nuclear și uneori extranuclear în urma *conjugării* directe a unor bacterii sau datorită *transducției* prin intermediul bacteriofagilor. Din cele prezentate reiese că bacteriile au o structură mai simplă ca a celulelor organismelor superioare, dar că mecanismul de replicație al ADN este identic, deși nucleoizii nu pot fi identificați cu nucleii. Ținînd seama de dimensiunile mici ale bacteriilor, de posibilitățile lor extraordinare de înmulțire și de timpul scurt în care se obțin generațiile, bacteriile au devenit un obiect foarte comod al cercetării genetice, în special pentru studiul bazelor moleculare ale eredității.

Scanned with OKEN Scanner

## CONJUGAREA GENETICĂ

*Conjugarea și recombinarea genetică la bacterii* este un fenomen similar procesului sexual de la organismele superioare. Fenomenul a fost descoperit în 1946 de către J. Lederberg și E. L. Tatum la *Escherichia coli*. La bacterii există două tipuri de indivizi : donatori sau masculi notați cu $F^+$ și receptori sau femeli notați cu $F^-$. Bacteriile de tip opus realizează fenomenul conjugării, care constă în formarea unei punți citoplasmatice intercelulare, după care are loc un proces de transfer parțial al cromozomului circular de la tipul donator la cel receptor. Ca urmare, celula $F^-$ devine temporar și parțial diploidă, rezultatul fiind apariția de recombinanți genetici datorită segregării. Procesul de transfer al materialului genetic durează ca regulă mai puțin de 30 minute și el se realizează însă numai la un număr redus de celule : 1/100 000 sau 1/1 000 000. Există însă tipuri donatoare care realizează conjugarea cu o frecvență mult mai mare, cum este Hfr = (1/10 — — 1/1000) și Vhf (frecvență și mai mare).

Fenomenul de conjugare genetică a fost descoperit la *E. coli*, pornindu-se de la observația că tipul sălbatic (normal) al acestei bacterii este capabil să crească pe un mediu minimal format dintr-un zahar, de pildă glucoza, și săruri anorganice, pe baza acestui mediu el putînd să-și sintetizeze aminoacizii și vitaminele necesare creșterii și reproducerii. J. Lederberg și E. L. Tatum au obținut prin iradiere cu raze X și ultraviolete mutante care nu pot crește pe mediu minimal deoarece nu-și pot sintetiza aminoacizii și vitaminele necesare. Mutanta Y-10 are nevoie pentru creștere și reproducere de adăugarea la mediul minimal a aminoacizilor leucină și treonină, precum și de vitamina tiamina. O altă mutantă Y-24 are nevoie de adăugarea la mediul minimal a aminoacizilor fenilalanina și cisteina, precum și de vitamina biotină. După cum se poate observa, de fapt cele două mutante poartă fiecare cîte 3 mutații biochimice. S-a mai constatat că în proporție de 1/1 000 000 pînă la 1/100 000 000 apar mutații de reversie spre tipul sălbatic pentru fiecare din cele 6 mutații biochimice. Probabilitatea apariției concomitente la o aceeași celulă a 2 mutații biochimice este mult mai mică, fiind egală cu produsul probabilităților lor separate. Astfel, dacă la linia Y-24 probabilitatea apariției unei mutante care să nu aibă nevoie de fenilalanină este de o celulă la $10^6$ celule, iar a unei alte mutante care să n-aibă nevoie de cisteină este, de asemenea, de 1 la $10^6$, probabilitatea apariției unei mutante care să nu aibă nevoie de ambii aminoacizi este de 1 la $10^{12}$. Bineînțeles că probabilitatea apariției unei mutante de reversie care să nu aibă nevoie de toate cele 3 substanțe în mediu este și mai redusă.

Prin amestecarea celor două culturi ale mutantelor Y-10 și Y-24 s-a constatat însă că s-au găsit colonii de tip sălbatic, normale pentru toate cele 6 mutații biochimice și care erau capabile să crească pe mediu normal. De asemenea, s-au găsit colonii care reprezintă combinări între cele două genotipuri ale mutantelor amestecate. Toate aceste mutații de

Scanned with OKEN Scanner

reversie au apărut în cultura mixtă cu o probabilitate mult mai mare decît cea normală pentru fiecare linie în parte. Concluzia acestor experienţe a fost că între cele două mutante în cultura mixtă a avut loc un proces de recombinare genetică, asemănător oarecum cu procesul sexual.

Cercetările ulterioare efectuate pe cale genetică şi citogenetică, mai ales cu ajutorul microscopului electronic, au confirmat faptul că între bacterii poate avea loc un schimb de material genetic, adică fenomenul recombinării. Astfel, F. Jacob şi E. L. Wollman (1961) au studiat recombinarea genetică la două suşe care aveau genotipuri diferite. Ei au efectuat experienţe de recombinare între o linie Hfr cu genotipul *tr*$^+$, *leu*$^+$, *azi-s*, *T*$_1$*-s*, *lac*$^+$, *gal*$^+$, *str-s* şi o linie F$^-$ care avea un genotip complementar *tr*$^-$, *leu*$^-$, *azi-r*, *T*$_1$*-r*, *lac*$^-$, *gal*$^-$, *str-r*. Aceasta însemna că linia Hfr era capabilă să sintetizeze aminoacizii treonina (tr) şi leucina (leu), să fermenteze zaharurile lactoza (lac) şi galactoza (gal) şi

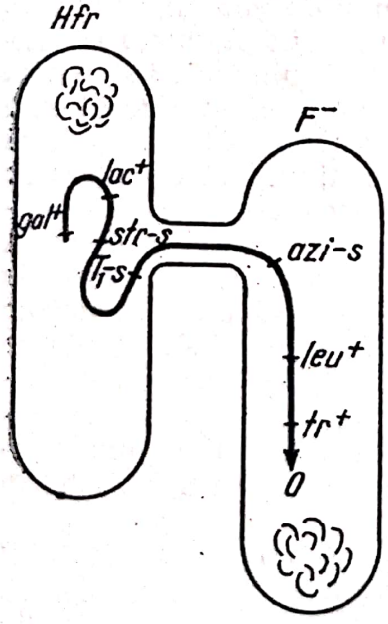



Fig. 30. Transferul cromozomului bacterian în timpul conjugării.

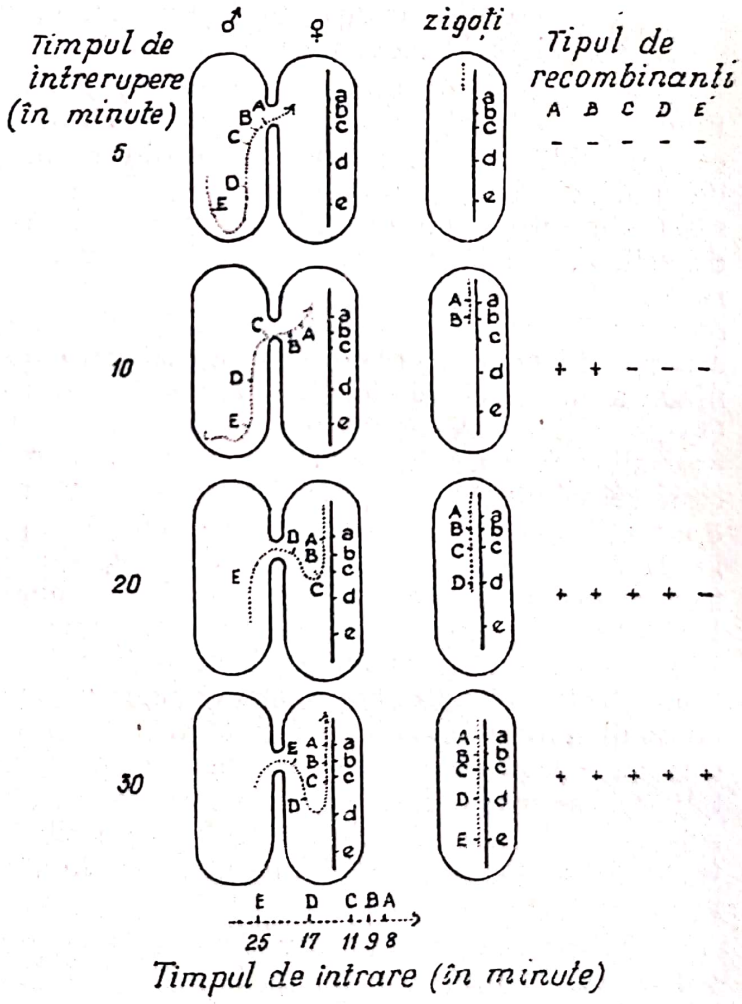



Fig. 31. Schema conjugării la *Escherichia coli* (după Hayes, 1964).

era sensibilă la azidă de sodiu (azi-s), la bacteriofagul $T_1$ ($T_1$-s) și la streptomicină (str-s), în timp ce linia $F^-$ avea toate caracterele opuse. După cultura mixtă a liniilor Hfr și $F^-$ timp de 25 minute, materialul a fost repicat pe mediu minimal, la care s-a adăugat streptomicină. Pe acest mediu bacteriile de tip Hfr sînt omorîte, fiind sensibile la streptomicină, iar bacteriile $F^-$ nu pot să crească din cauză că lipsesc aminoacizii treonină și leucină. Cu toate acestea s-au găsit numeroase recombinații între cele două genotipuri, care au permis bacteriilor să crească pe mediul respectiv. De pildă s-au găsit colonii de bacterii cu genotipul $tr^+$, $leu^+$, str-r, care prezintă o recombinare între cele două genotipuri. Aceste tipuri de bacterii au fost repicate pe medii speciale, pentru a se determina capacitatea lor de a fermenta lactoza și galactoza, precum și rezistența lor la bacteriofagul $T_1$ și azidă de sodiu. S-a constatat că din bacteriile cu genotipul $tr^+$, $leu^+$, str-r un număr de 90% sînt azi-s, 70% sînt $T_1$-s, 40% sînt $lac^+$ și 25% sînt $gal^+$. Pornind de la observația că recombinarea se face în proporții diferite F. Jacob și E. L. Wollman au ajuns la concluzia că factorii ce determină apariția diferitelor caractere la bacterii sînt plasați pe cromozom liniar. Un argument important în această direcție îl constituie observația că dacă conjugarea între cele două tipuri de bacterii este întreruptă prin agitare puternică după un timp variabil, se observă o anumită corelație între timpul cît a durat procesul sexual și procesul de apariție a recombinărilor. Pe această bază s-a stabilit că ordinea factorilor ereditari respectivi este cea dată de harta genetică de mai jos :

| O | $tr^+$ | $leu^+$ | azi — s | $T_1$ — s | $lac^+$ | $gal^+$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Procentul de recombinări | — | — | 90 | 70 | 40 | 25 |
| Timpul, în minute | 8 | $8^1/_2$ | 9 | 11 | 18 | 25 |

O dată cu transferul de material genetic aparținînd *cromozomului circular bacterian* poate avea loc și un transfer al unor alte structuri circulare formate din A D N și denumite *conjugoni*. Aceste structuri sînt : *factorul de transfer al rezistenței la antibiotice* (R T F), *factorul colicinogenic* (CF) și *factorul fertilitate* (F). Acești 3 factori au primit denumirea de *conjugoni* datorită faptului că ei sînt necesari pentru a avea loc fenomenul conjugării bacteriene, prin care se realizează schimbul de material genetic între celule. În prezența oricăruia dintre acești 3 factori în celula donatoare se poate realiza conjugarea cu o celulă receptoare lipsită de acești factori. În timpul conjugării, conjugonii migrează de obicei de la celula masculă la cea femelă. Pe baza unor prime cercetări s-a considerat că conjugonii sînt structuri independente de cromozomul bacterian și pot fi considerați unități genetice accesorii, care se reproduc

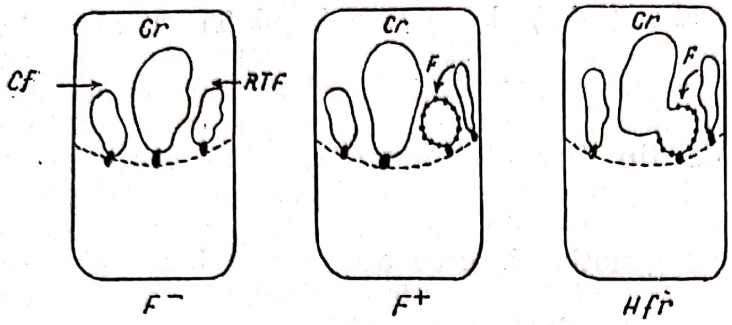



Fig. 32. Repliconi în celule de *E. coli* atașați de o membrană în placa ecuatorială: repliconul cromozomal (C r), repliconul colicinogenic (C f), repliconul de fertilitate (F) și factorul de transfer al rezistenței la antibiotice (R T F) (după Jacob, 1960)

autonom și care se pot întîlni atît în nucleu cît și în citoplasmă. *F. Jacob* și *E. L. Wallmann* au denumit în 1958 aceste unități genetice accesorii *episomi*, ei putînd exista atît independent cît și integrați cromozomului bacterian.

În ultima vreme s-a dovedit experimental că factorii F, CF, R T F sînt structuri genetice independente dar foarte asemănătoare cromozomului bacterian, de care diferă numai prin mărime și frecvența replicării. Ca urmare, F. Jacob și colaboratorii au propus în 1963 ca termenul *replicon* să fie folosit atît pentru cromozomul bacterian cît și pentru conjugoni. *Repliconii sînt structuri genetice circulare, variabile ca mărime, bogate în A D N și care au o capacitate de replicare autonomă.*

De pildă, s-a constatat că celulele bacteriene $F^+$ pot transfera celulelor $F^-$ nu numai sexul (transformîndu-le în $F^+$), ci și mici fragmente de material genetic al bacteriei donatoare. Astfel, în cazul că bacteria $F^+$ posedă gena $gal^+$ care determină capacitatea de a utiliza în mediu galactoza, iar bacteria $F^-$ posedă gena $gal^-$ ce determină incapacitatea de folosire a galactozei, o dată cu transferul sexului se transferă și gena $gal^+$. În felul acesta, bacteria receptoare $F^-$ devine $F^+$ și capabilă să utilizeze galactoza, deși posedă concomitent și gena $gal^-$. Astfel de bacterii poartă denumirea de *heterogenoți*, adică sînt heterozigote pentru materialul genetic primit de la bacteria donatoare.

## TRANSDUCȚIA GENETICĂ

*Transducția genetică* este un alt fenomen observat la bacterii prin care se realizează recombinarea genetică cu ajutorul unor bacteriofagi. Fenomenul a fost descoperit în 1952 de către N. D. Zinder și J. Lederberg la bacteriofagul P L T de la *Salmonella* și ulterior a fost identificat la alte genuri de microorganisme, ca *Pseudomonas, Bacillus, Micrococcus* etc.

După cum se știe bacteriofagii se pot afla sub mai multe forme: *virulentă*, care duce la distrugerea bacteriei gazdă prin liză, și *temperată*, care duce sau la liza bacteriei ca în cazul precedent, sau la stabilirea unui fel de asociație cu bacteria-gazdă și în care bacteriofagul se transformă într-o formă nepatogenă denumită *profag*. Capacitatea unor bac-

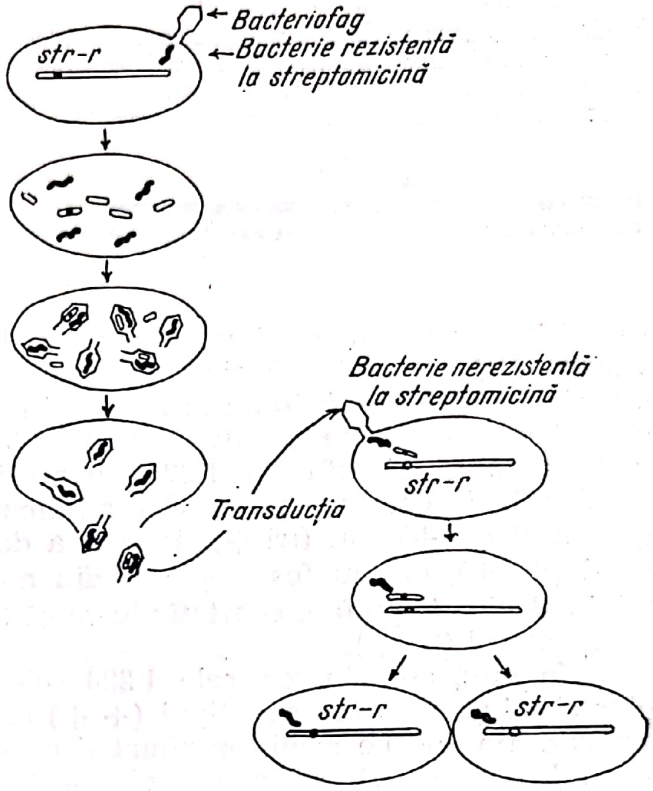



Fig. 33 Transducția genetică a rezistenței la streptomicină (str - r) cu ajutorul bacteriofagului.

terii de a purta și reproduce profagi are un caracter ereditar și fenomenul se numește *lizogenie*. Un exemplu tipic de transducție genetică, după R. P. Levine (1962), a fost observat la *Salmonella,* bacterie lizogenă, la care există două mutante ce nu pot crește decît pe un mediu minimal, la care se adaugă aminoacizii triptofan sau cisteină, precum și o a treia mutantă ce are nevoie atît de triptofan cît și de cisteină.

Tipul sălbatic normal poate crește pe mediu minimal, el avînd deci genotipul (+ +), în timp ce prima mutantă ce are nevoie de triptofan are genotipul (tri +), iar a doua mutantă ce are nevoie de cisteină are genotipul (+ cis).

În mod normal, fiecare din aceste două tipuri de bacterii (tri + și + cis) se pot transforma printr-un proces mutațional în tipul sălbatic (+ +), însă cu o frecvență foarte mică.

Dacă se iau bacteriofagi care au infectat tipul sălbatic (+ +) și se folosesc pentru infecția uneia din mutante, de pildă (tri +), iar apoi mutanta (tri +) se cultivă pe un mediu minimal, se constată că un număr mare de colonii pot crește pe acest mediu. Aceasta înseamnă că tipul (tri +) s-a transformat în tipul sălbatic (+ +) datorită bacteriofagului, care a purtat material genetic de la o tulpină la alta.

La fel, dacă se iau bacteriofagi care au infectat bacterii de tip sălbatic (+ +) și se folosesc pentru infectarea unei muntante care nu poate crește decît pe un mediu la care se adaugă atît triptofan cît și cisteină (tri cis), după care bacteriile respective purtătoare de profagi

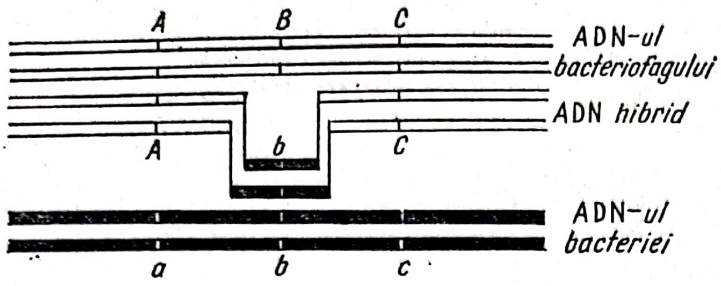



Fig. 34. Transferul de gene la nivelul A D N în cazul transducției genetice.

se cultivă pe mediu minimal sau pe mediu minimal la care s-a adăugat triptofan și respectiv cisteină, se observă apariția a numeroase recombinări. Rezultatele obținute arată că din 3 413 colonii, un număr de 336 colonii au crescut pe mediu minimal, 1 849 colonii au crescut pe mediu minimal plus triptofan și 1 228 pe mediu minimal plus cisteină. Cele 1 849 colonii crescute pe mediu minimal plus triptofan pot avea sau genotipul (+ +) sau (tri +). Pentru a determina care din ele au genotipul (+ +), ele au fost repicate din nou pe mediu minimal și mediu minimal plus triptofan, constatîndu-se că 337 au genotipul (+ +) și 1 512 au genotipul (tri +).

În mod asemănător, cele 1 228 colonii crescute pe mediu minimal plus cisteină pot avea genotipul (+ +) sau (+ cis). De aceea ele au fost repicate din nou pe mediu minimal și mediu minimal plus triptofan, constatîndu-se că 351 au genotipul (+ +) și 877 au genotipul (+ cis).

| Mediul | Nr. de colonii obținute | Mediul de repicare | Nr. de colonii obținute | Genotipul |
|---|---|---|---|---|
| minimal | 336 | — | — | ++ |
| minimal plus triptofan | 1 849 | minimal | 337 | ++ |
| | | minimal plus triptofan | 1512 | tri + |
| cisteină minimal plus | 1 228 | minimal | 351 | ++ |
| | | minimal plus cisteină | 877 | + cis |

Analiza acestor rezultate arată foarte clar că prin intermediul bacteriofagilor a fost posibil transferul unor caractere genetice de la bacteria donatoare (+ +) la bacteria receptoare (tri cis). Din totalul de 3 413 colonii, un număr de 1 024 (336 + 337 + 351), adică aproape 30% au dobîndit capacitatea de a crește pe mediu minimal. Această experiență arată, de asemenea, că cele două caractere (capacitatea de a crește pe

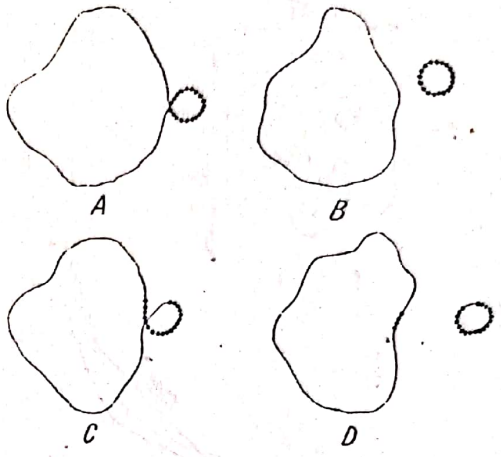



Fig. 35. Transducția genetică la nivelul A D N la bacterii : separarea normală a A D N-ului profagului de cromozomul circular al bacteriei (A și B) și separarea anormală a A D N-ului profagului prin care se realizează transferul de material genetic (C și D) (după B r a u n, 1965).

mediu minimal plus triptofan și mediu minimal plus cisteină) sînt strîns legate între ele și de aceea ele se transmit înlănțuite prin intermediul bacteriofagului.

Cum se explică fenomenul de transducție ? Pe baza experiențelor privind transformarea genetică a unor organisme cu ajutorul A D N exogen, s-a ajuns la concluzia că prin intermediul bacteriofagului se transportă mici fragmente din macromolecula de A D N de la bacteria donatoare la bacteria receptoare. Aceste fragmente străine de A D N, omoloage însă celor existente în A D N-ul bacteriei respective, pot înlocui total sau parțial fragmentele proprii de A D N și duc la apariția fenomenului de transducție genetică.

## VIRUSURILE

Ciclul de viață al virusurilor animalelor, plantelor sau bacteriilor este în esență același și el este determinat de constituția specială a virusurilor. Astfel, datorită alcătuirii lor extrem de simple, întregul proces de replicare al virusurilor se realizează pe seama celulei-gazdă, care oferă nu numai materia primă și energia, dar înseși enzimele necesare sintezei noilor particule virale.

În linii mari ciclul de viață al virusurilor este alcătuit din următoarele etape : *adsorbția* la suprafața celulei sensibile, *infectarea* acesteia prin pătrunderea virusului sau numai a acizilor nucleici infectanți în celulă, *faza de eclipsă* în care virusul încetează virtual de a mai exista, dezintegrîndu-se în acizi nucleici și proteine care sînt dispersați în celulă, iar virusul ia denumirea de *provirus*. În cazul fazei de eclipsă are loc *replicarea substanțelor virotice*, adică a provirusului, după care acesta trece în faza de *virus vegetativ* în care are loc un proces activ de sinteză a acizilor nucleici virali și a proteinelor virale, prin a căror asamblare apare *virusul matur*, care este eliberat treptat sau exploziv de celula-

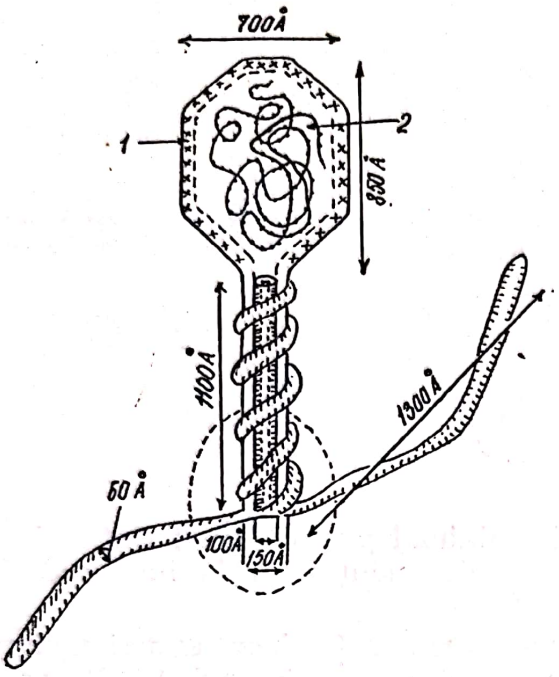



Fig. 36. Schema alcătuirii bacteriofagului T 2 : înveliș proteic (1) și A D N (2) (după A n f i n s e n, 1959).

gazdă. Ciclul de viață al virusurilor variază ca durată, fiind de 20—90 minute pentru bacteriofagi și mai lung pentru alte tipuri de virus. Caracteristic pentru repicația virusurilor este că ele aduc în celula-gazdă numai informația genetică proprie și subordonează complet mecanismele de biosinteză celulară, deviindu-le în sensul biosintezei virale.

Un interes deosebit îl prezintă pentru cercetările de genetică *ciclul de viață al bacteriofagilor*. De pildă, bacteriofagul T 2 alcătuit din A D N și un înveliș proteic are un ciclu de viață similar în linii mari altor virusuri, alcătuit din următoarele etape : *adsorbția* la suprafața bacteriei, *pătrunderea* în bacterie a A D N-ului viral, *faza de eclipsă* în care are loc blocarea sintezei acizilor nucleici și proteinelor celulei-gazdă și în care fagul nu poate fi decelat, *faza de fag vegetativ* în care începe sinteza separată a A D N-ului bacteriofagului și a proteinelor virale, după care are loc *montajul* fagului din componenții săi și apare *fagul matur*. În sfîrșit, are loc *liza bacteriei* și *eliberarea a circa 200 de bacteriofagi maturi* noi sintetizați. Întregul proces durează circa 20 minute.

Spre deosebire de tipul de *bacteriofagi virulenți* descris, capabil să provoace liza bacteriilor-gazdă, există și un alt tip, și anume *bacteriofagii temperați sau simbiotici* care se multiplică sincronizat cu celula-gazdă, fără a-i provoca liza. Procesul prin care bacteriile încorporează bacteriofagul temperat și-l transmit ereditar la descendenți poartă numele de *lizogenizare*, iar bacteriile respective se numesc *lizogene*. *Ciclul de viață al bacteriofagilor temperați* este diferit de cel al fagilor virulenți, în sensul că după pătrunderea acidului nucleic fagic în bacterie se produce transformarea sa în *profag*, ce este încorporat cromozomului bacterian

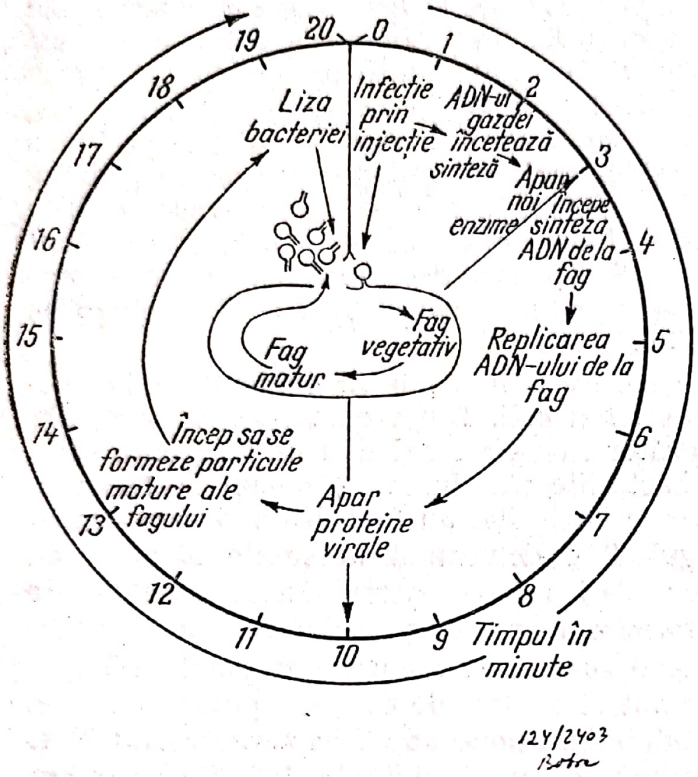



Fig. 37. Ciclul de viață al bacteriofagului T 2 (după Wagner și Mitchell, 1964).

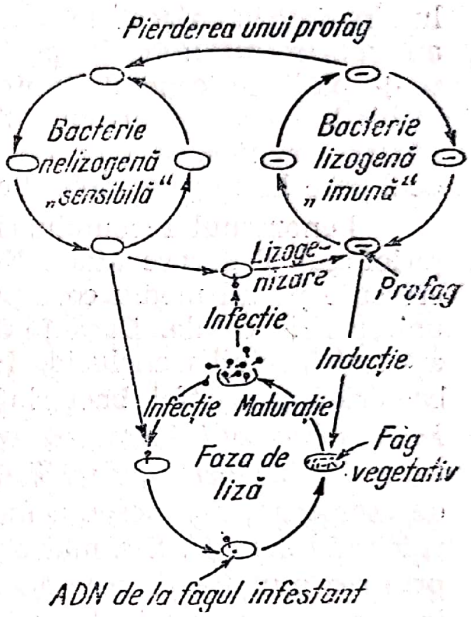



Fig. 38. Ciclul de viață la bacteriofagii temperați (după Wagner și Mitchell, 1964).

și se replică o dată cu acesta, transmițîndu-se astfel la descendenți. Bacteriile ce conțin profagi sau fagi temperați sînt rezistente la o nouă infecție cu același tip de bacteriofag și capătă denumirea de *bacterii lizogene*.

Bacteriofagii temperați pot deveni virulenți fie în mod spontan, fie sub influența unor factori mutageni (radiații ultraviolete, raze X, azotiperită etc.) printr-un *fenomen de inducție*. Ca urmare, profagul este transformat în *fag vegetativ* și apoi în *fag matur*, după care bacteria este lizată, și noii bacteriofagi sînt eliberați.

## RECOMBINAREA GENETICĂ LA VIRUSURI

La bacteriofagi s-au descoperit relativ recent unele fenomene de sexualitate prin care se realizează *recombinarea genetică* între doi sau mai mulți indivizi. Fenomenul a fost remarcat prima oară de *S. E. Luria* și *Dulbecco*, care au constatat că dacă într-o bacterie pătrund mai mulți bacteriofagi inactivați prealabil cu ajutorul radiațiilor ultraviolete, după un anumit timp apar bacteriofagi activi datorită unui proces de recombinare care se realizează între bacteriofagi.

Recombinarea genetică la bacteriofagi a fost studiată special de Hershey și Rotman la 2 suşe ale bacteriofagului P-22 care atacă bacteria *Salmonella typhimurium*: una dintre suşe notată cu $v_2 t$ determină apariţia unor plăji cu centrul luminos şi halou tulbure, iar cealaltă sușă + + determină plăji cu centrul închis la culoare şi halou luminos. Prin infectarea acelorași bacterii cu ambele suşe de bacteriofag au apărut nu numai tipurile genitoare, dar şi o recombinare a lor: $v_2$ + plăji cu centrul luminos şi halou luminos, + $t$ plăji cu centrul închis la culoare şi halou tulbure. S-a produs deci un fenomen de recombinare genetică, similar cu crossing-overul, ca şi cum ar fi fost vorba de 2 perechi de gene alele *A a, B b*.

Fenomenul recombinării genetice a fost pus în evidenţă şi la bacteriofagul T *4* care atacă *Escherichia coli*. După cum se ştie bacteriile crescute pe un mediu corespunzător în vase Petri dau naştere unui strat uniform de celule. Dacă însă bacteriile sînt infectate cu un bacteriofag, apar niște plăji translucide în care bacteriile au fost lizate şi care conţin bacteriofagi. Astfel bacteriofagul T *4* determină la suşele B şi K de *Escherichia coli* formarea unor plăji mici caracteristice. Mutantele de tip *r* ale bacteriofagului T *4* formează nişe plăji mai mari, care pot fi, de asemenea, recunoscute în cazul suşei B şi nu pot provoca liza bacteriilor din suşa K. S-a mai observat că mutantele de tip *r* pot da naştere, printr-o mutaţie de reversie, tulpinii iniţiale, adică bacteriofagului T *4*, însă într-o proporţie foarte redusă, de un individ la $10^8$. Dacă se iau două mutante diferite de tip *r* ale bacteriofagului T *4* denumite *r*-a şi *r*-b şi cu ele amestecate se infectează suşa B a bacteriei *Escherichia coli*, se constată bineînţeles că aceasta este lizată. Bacteriofagii obţinuţi astfel se folosesc apoi pentru infectarea suşei K a bacteriei, pe care nici unul dintre ei individual nu poate să o lizeze decît în raport de $1 \times 10^{-8}$. S-a observat că datorită fenomenului de recombinare genetică apar numeroşi bacteriofagi capabili să lizeze suşa K a bacteriei, într-o măsură mult mai mare decît ar fi apărut prin procesul normal de mutaţie de reversie. În cazul recombinării mutantelor *r*-a şi *r*-b, apare tipul normal de bacteriofag T *4* în proporţie de 5%, deci incomparabil mai mult decît fiecare în parte dintre cele două mutante. Ulterior, aceste cercetări au fost continuate cu alte mutante *r*, constatîndu-se că frecvenţa cu care apare tipul normal variază de la o mutantă la alta. Pe această bază s-au construit hărţi genetice la bacteriofagul T *4* în funcţie de capacitatea de recombinare a diferitelor mutante *r*.

S. Benzer (1959) a studiat aproximativ 1 000 mutante de tip *r* II ale bacteriofagului T *4* şi a reuşit să alcătuiască o hartă genetică în care cele mai îndepărtate mutaţii erau plasate la o distanţă de 10% recombinări, iar cele mai apropiate la o distanţă de 0,02% recombinări.

Pentru cercetările de genetică virusurile prezintă importante avantaje, astfel că ele au devenit în ultima vreme un obiect de cercetare foarte folosit în studiile de genetică moleculară. Pe lîngă faptul că viru-

Scanned with OKEN Scanner

surile au o alcătuire foarte simplă, unele fiind formate exclusiv din acizi nucleici și proteine, au un ciclu de viață scurt și pot fi relativ ușor multiplicate, dar ceea ce are mare însemnătate este faptul că modificările genetice pot fi urmărite la nivel molecular. Multe din descoperirile importante ale geneticii moleculare se datoresc, printre altele, faptului că s-au folosit ca obiect de studiu virusurile și în special bacteriofagii.

## BAZELE CELULARE ALE SEGREGĂRII

Legile mendeliene ale segregării au fost elaborate pe baza experiențelor de hibridare sexuată între varietăți de mazăre la care caracterele segregau independent și pe baza ipotezei lui G. M e n d e l că factorii ereditari (genele) perechi se transmit independent unii de alții, combinîndu-se pe bază de probabilitate. Cercetările la nivel celular au demonstrat justețea acestei ipoteze a lui G. M e n d e l, segregarea putînd fi explicată prin mecanismul cromozomial al meiozei.

De exemplu, la lăcustă s-a remarcat prezența unor modificări ale formei cromozomilor la diferite subspecii. Astfel s-a constatat că perechile I, VII și VIII de cromozomi la o subspecie au anumite modificări structurale față de aceleași perechi de cromozomi ale unei alte subspecii. Ca urmare, prin încrucișarea celor 2 subspecii este posibilă urmărirea în meioză a modului cum se împerechează cromozomii omologi materni și paterni. Pe această bază s-a constatat la hibrid că cei 3 cromozomi marcați ai unui genitor se împerechează cu cei 3 cromozomi nemarcați omologi ai celuilalt genitor, formînd bivalenți în metafaza I a meiozei. După aceea însă ei se separă și migrează la polii celulei în mod diferit, fiecare pereche independent de celelalte pe bază de probabilitate.

Dacă luăm în considerare o specie cu $2n = 6$, la care există varietăți în care cele 3 perechi de cromozomi sînt deosebite morfologic și considerăm că pe fiecare pereche de cromozomi există cîte o pereche de gene alele (*A a, B b, C c*), aceasta înseamnă că un genitor cu genele dominante va fi *A A B B C C*, iar celălalt cu gene recesive va fi *a a b b c c*. Prin încrucișarea lor se obține un heterozigot *A a B b C c*, care are posibilitatea teoretică de a forma 8 tipuri de gameți în funcție de modul cum migrează la poli cromozomii, independent o pereche de celelalte. Prin fecundarea celor 8 tipuri diferite de gameți ai unui genitor heterozigot cu 8 tipuri de gameți ai altui genitor heterozigot se obține în $F_2$ un număr de 64

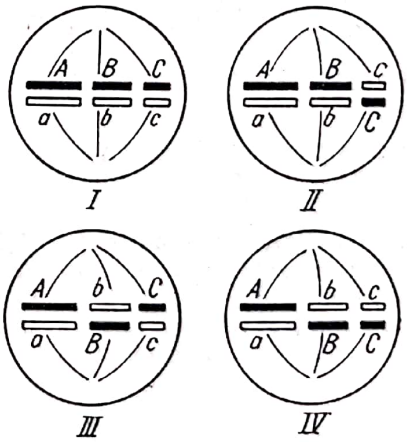



Fig. 39. Segregarea cromozomială în cazul încrucișării între 2 organisme care au $2n = 6$.

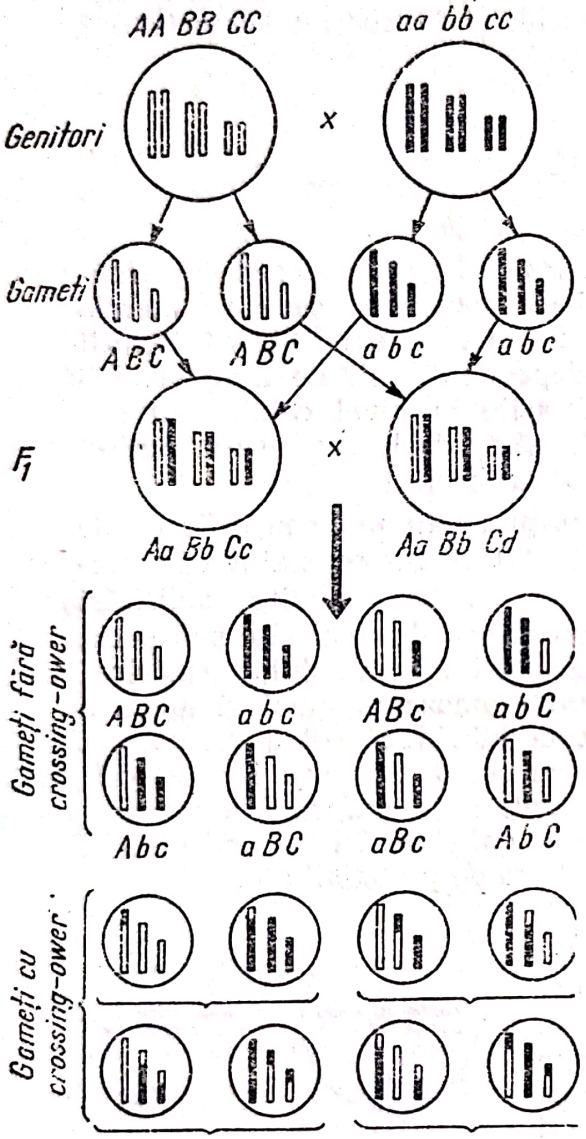



**Fig. 40. Numărul de gameți diferiți obținuți în urma segregării cromozomiale la organisme cu $2n = 6$ este de 8, iar în cazul crossing-overului acest număr se mărește considerabil.**

combinații care dau o segregare mendeliană de 27 : 9 : 9 : 9 : 3 : 3 : 3 : 1. Dacă în cazul a 3 perechi de cromozomi probabilitatea ca un gamet să fie diferit de ceilalți este de $\left(\frac{1}{2}\right)^3$, iar ca un individ să fie diferit genotipic de alții este de $\left(\frac{1}{2}\right)^6$. Trebuie adăugat însă că un alt factor care mărește variabilitatea genetică a descendenților este fenomenul crossing-over prin care tot în meioză se realizează schimburi de fragmente de cromatide între cromozomii pereche. Cîteva din aceste tipuri de crossing-over sînt redate în desenul alăturat. Ca urmare, are loc între cromozomii pereche un schimb reciproc de gene plasate pe fragmentele de cromatide respective.

Desigur că la speciile de plante și animale care au un număr mai mare de perechi de cromozomi se realizează un număr imens de combinații ale cromozomilor în meioză. De pildă, la *Zea mays* care are $2n = 20$ probabilitatea ca un gamet să fie diferit de alții pornind de la ipoteza că pe fiecare cromozom este o singură genă este de $\left(\frac{1}{2}\right)^{10} = 1/1024$, iar ca un individ să fie diferit genotipic este de $\left(\frac{1}{2}\right)^{20}$, adică 1/1048576.Dacă se consideră că pe fiecare cromozom sînt numai trei gene plasate una la un cap, alta la mijloc și alta la celălalt, astfel că ele se pot separa ușor prin crossing-over fiind îndepărtate una de alta, probabilitatea ca un individ să fie diferit genotipic de alții este de $\left(\frac{1}{2}\right)^{60}$. Pentru a realiza toate combinațiile genotipice posibile în acest caz, ar fi necesară, după calculele lui W. R. Singleton (1964), o suprafață de teren mai mare de 2 000 de ori decît suprafața pămîntului.

În cazul omului la care $2n = 46$ pornind de la ipoteza că pe fiecare cromozom este o singură genă, probabilitatea ca un gamet să fie diferit de alții este de $\left(\frac{1}{2}\right)^{23}$, adică 1/8 388 608, iar ca un individ să fie genotipic diferit de alții este de $\left(\frac{1}{2}\right)^{46}$, cifră care depășește de multe mii de ori populația globului. Dacă ținem seama că pe fiecare cromozom sînt mai multe gene și că între cromozomii pereche are loc fenomenul de crossing-over, posibilitatea de recombinare a genelor este cu adevărat imensă.

Pe această bază se poate trage concluzia că înmulțirea pe cale sexuată asigură o mare variabilitate a descendenței organismelor datorită probabilității de recombinare a genelor prezente în populația respectivă. De aceea, la organismele ce se înmulțesc sexuat nu există doi descendenți identici, cu excepția gemenilor monozigoți. Nu trebuie uitat că pe lîngă mecanismul cromozomial al eredității există și mecanisme necromozomiale care contribuie, de asemenea, la mărirea variabilității genetice a organismelor.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL V

# MECANISMUL CROMOZOMIAL AL EREDITĂȚII

## CROMOZOMII ȘI EREDITATEA

Descoperirea legilor mendeliene ale segregării a însemnat un important pas înainte în studiul eredității, însă această descoperire n-a dat răspuns la întrebarea care este substratul material celular al factorilor ereditari (genelor). Progresele înregistrate de citologie în a doua jumătate a secolului al XIX-lea și începutul secolului al XX-lea au dus la o altă mare descoperire, și anume a mecanismului cromozomial al eredității, punîndu-se astfel bazele studiului eredității la nivel celular și al unei științe de contact, ce a primit numele de *citogenetică*.

Cercetările mai importante care au făcut posibilă descoperirea mecanismului cromozomial al eredității au fost următoarele : R. Brown a reușit în 1831 să identifice nucleii în celule, apoi E. Strassburger în 1875, Butschli în 1876, O. Hertwig și Kolker ulterior, ajung independent la concluzia că în nuclei se află substratul material al eredității. În acest sens merită a fi menționate cercetările privind fecundația ale lui E. Strassburger care remarcînd faptul că la plante ovulele cu toate că sînt mari și conțin multă citoplasmă au o importanță genetică aproximativ egală cu a nucleilor spermatici ce sînt foarte mici și aproape complet lipsiți de citoplasmă, trage concluzia că nucleii sînt responsabili cu transmiterea ereditară a caracterelor. Tot E. Strassburger a descoperit în 1875 cromozomii, iar în 1882 W. Fleming studiază procesul diviziunii celulare și îl denumește *mitoză*, descoperind totodată fenomenul de clivare longitudinală a cromozomilor.

Meritul de a fi adus argumente experimentale că factorii ereditari (genele) sînt localizați în cromozomi a revenit la doi citogeneticieni în 1902, și anume : W. S. Sutton în Statele Unite și T. Boveri în Germania. Aceasta constituie prima piatră fundamentală a descoperirii mecanismului cromozomial al eredității.

W. S. Sutton studiază în special procesul de diviziune reducțională (meioza) la plantele și animalele superioare, constatînd un paralelism evident între segregarea mendeliană și modul cum se separă cromozomii în gameți. Printre altele, el remarcă faptul că fiecare gamet

Scanned with OKEN Scanner

conține un număr haploid de cromozomi și respectiv cîte un membru al fiecărei perechi de cromozomi, după cum fiecare gamet conține un membru al unei perechi de gene alele. De asemenea, el constată similitudinea dintre gene și cromozomi care se comportă ca unități independente în procesul de transmitere ereditară. Pe această bază el emite ideea că genele sînt localizate în cromozomi.

T. Boveri studiază în aceeași perioadă diviziunea celulară la *Ascaris megalocephala* *, specie ce conține $2n = 4$ cromozomi, ce pot fi ușor identificați după formă și mărime, constatînd faptul că în toate celulele numărul, mărimea și forma cromozomilor sînt constante. Totodată el remarcă faptul că cromozomii se află întotdeauna în celulele somatice sub formă de pereche și că în celulele sexuale numărul lor este redus la jumătate, în fiecare gamet neexistînd decît un membru al fiecărei perechi. La ariciul de mare la care $2n = 36$ cromozomi T. Boveri reușește să obțină indivizi triploizi, diferiți considerabil de tipul normal. Pentru obținerea de triploizi ($2n = 54$) el introduce ovule într-o suspensie de spermă și printr-un fenomen de dispermie, adică prin fecundarea concomitentă a unei ovule de către 2 spermatozoizi, apar zigoți triploizi. La celulele cu 54 cromozomi s-au remarcat diviziuni anormale, care au dus la apariția de celule cu 18—27 și 36 cromozomi din care s-au format ulterior indivizi. S-a constatat că numai indivizii ce conțineau $2n = 36$ cromozomi sînt normali, iar restul prezintă numeroase anomalii. În felul acesta el a ajuns la concluzia că pentru dezvoltarea normală a organismelor este necesară prezența unor garnituri complete de cromozomi. Ca urmare, procesul autoreproducerii materiei vii și respectiv continuitatea ereditară nu se pot realiza fără un suport cromozomial corespunzător.

Un alt argument important care a permis descoperirea mecanismului cromozomial al eredității l-au constituit cercetările privind determinarea genetică a sexului. Încă în 1891 citologul german H. Henking a descoperit că la unele insecte jumătate din gameți posedă niște corpusculi X și cealaltă jumătate este lipsită de acești corpusculi, fapt pe care el îl leagă de diferențierea sexelor.

În 1902, citologul C. E. McClung, studiind mai multe specii de lăcustă, descoperă că masculii și femelele posedă un număr diferit de cromozomi, fapt prin care el explică determinarea genetică a sexelor. Ulterior, un alt citolog cunoscut E. B. Wilson descoperă în 1905 la genul de insecte *Protenor* că masculii au $2n = 13$ cromozomi, și femelele $2n = 14$ cromozomi, iar gameții sînt de un singur tip la femele avînd $n = 7$ cromozomi și de 2 tipuri a masculi cu $n = 6$ și $n = 7$ cromozomi. Prin fecundarea ovulelor cu spermatozoizi cu 6 cromozomi apar indivizi masculi, iar prin fecundarea gameților femeli cu spermatozoizi cu 7 cromozomi apar indivizi femeli. Toate aceste descoperiri demonstrau foarte concludent că un caracter atît de important cum este sexul are o determinare ereditară cromozomială.

---

* Această specie poartă în prezent denumirea de *Parascaris equorum*.

## TEORIA CROMOZOMIALĂ A EREDITĂȚII

Descoperirile amintite, precum și altele au dus în mod evident la stabilirea unei legături între modul cum segregă și se combină factorii ereditari mendelieni (genele) la hibrizi și mecanismul cromozomial al diviziunii celulare, adică s-a ajuns la concluzia că cromozomii constituie suportul material al eredității. Meritul de a fi sintetizat într-o teorie unitară toate aceste cercetări, precum și vastele rezultate experimentale proprii au revenit geneticianului american Thomas Morgan, profesor la Universitatea Columbia din New-York.

Cercetările lui T. Morgan și ale colaboratorilor săi C. B. Bridges, A. H. Sturtevant, H. J. Muller etc. au fost efectuate în special asupra musculiței de oțet *(Drosophila melanogaster)*. Această insectă se înmulțește foarte repede, o generație putînd fi obținută la temperatura de 20°C în numai 12 zile. În felul acesta, într-un an se puteau studia un număr mare de generații succesive. Fiecare femelă produce cîteva sute de descendenți, care se cresc foarte ușor în flacoane de sticlă pe un mediu banal, astfel că numărul indivizilor cercetați într-un interval scurt de timp este foarte mare. Numărul de cromozomi somatici la *Drosophila melanogaster* este destul de mic ($2n = 8$) și ei pot fi ușor identificați datorită deosebirilor lor morfologice.

Studiind cîteva sute de mii de indivizi timp de mai mulți ani, T. Morgan și colaboratorii săi au reușit să identifice peste 500 de mutații care afectau toate organele insectei. Aceste mutante au servit

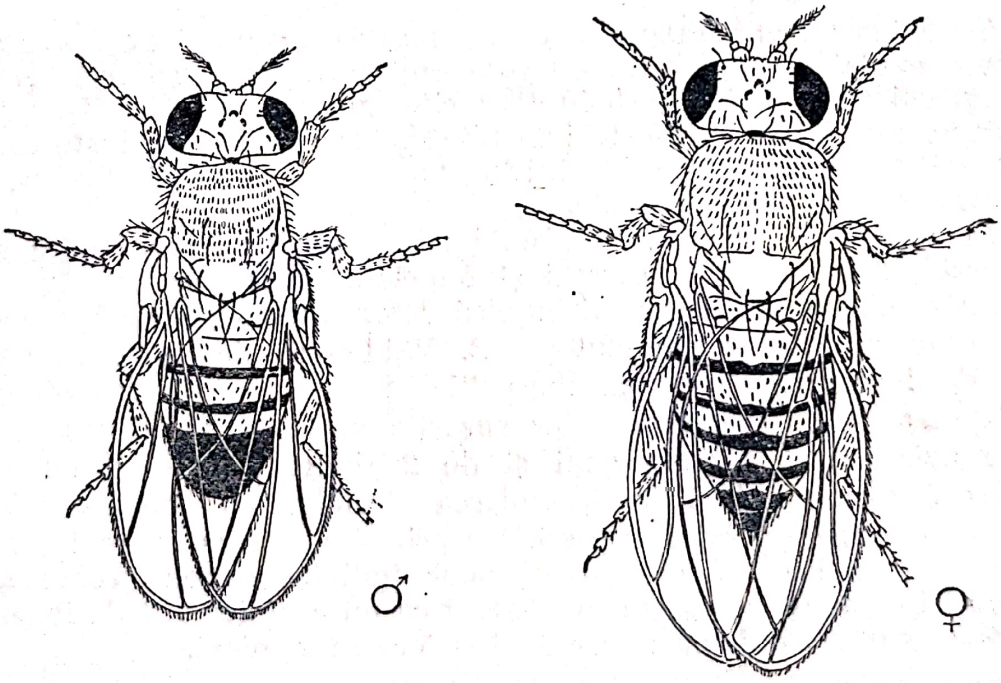



Fig. 41. Un mascul și o femelă de *Drosophila melanogaster*.

ca un excelent material pentru studiul transmiterii ereditare a caracterelor la descendenți și respectiv a mecanismului cromozomial al eredității. Iată cîteva din mutațiile dominante (cu literă mare) și recesive (cu literă mică), identificate de T. Morgan:

Culoarea ochilor

*w*, albă
*pr*, purpurie
*se*, sepia

Forma ochilor

*B*, ochi barați
*s*, ochi în stea
*ey*, fără ochi

Aripile

*T*, trunchiate
*vg*, vestigiale
*c*, îndoite

Culoarea corpului

*y*, galbenă
*l*, oranj
*b*, neagră

Prin încrucișarea mutantelor între ele sau cu tipul normal „sălbatic" s-a studiat modul de transmitere ereditară a diferitelor gene în cursul mai multor generații. Aceste rezultate corelate cu cercetările citologice ale materialului respectiv au dus la elaborarea celor mai importante teze privind mecanismul cromozomial al eredității.

## GENE, LOCI ȘI CROMOZOMI

*Prima teză a teoriei cromozomice a eredității consideră că genele sau factorii ereditari sînt plasați în cromozomi în anumite poziții precise denumite loci* (singular *locus*).

*Genele* sau factorii ereditari pot fi definite ca unități ereditare care asigură transmiterea caracterelor și însușirilor de la ascendenți la descendenți, fiind responsabile cu dezvoltarea caracterelor și însușirilor organismelor vii în anumite condiții de mediu. De obicei, genele se prezintă sub formă de pereche de alele ce determină dezvoltarea unor caractere contrastante, din care una este *dominantă* și se notează cu literă mare și alta *recesivă* și se notează cu literă mică. În general se consideră că de la tipul ancestral „sălbatic" a apărut prin mutație un tip diferit de organism, iar genele care determină tipul sălbatic și cel diferit au devenit astfel *alele*. De fapt este vorba de o aceeași genă transformată prin procesul mutațional. Ca urmare, genele alele se află în același

*locus* pe cromozom. Dacă se notează gena ce determină tipul sălbatic cu litera $a^+$ și gena alelă cu $a$, aceasta înseamnă că tipurile homozigote sînt $a^+a^+$ și $a\ a$, iar cel heterozigot este $a^+\ a$. Pe fiecare pereche de cromozomi, în aceeași poziție, se află opus genele alele în stare homozigotă sau heterozigotă. Uneori în același locus pot fi plasate mai mult decît 2 gene alele și atunci fenomenul poartă denumirea de *polialelie*.

*În concepția clasică genele sînt considerate unități ereditare funcționale, mutaționale și de recombinare genetică.* Aceste caracteristici ale genelor au fost puse în evidență mai ales prin efectuarea de încrucișări între diferite mutante și tipul „sălbatic", sau exclusiv între mutante. Pe cale experimentală s-a ajuns astfel la concluzia că genele alele afectează funcțional același caracter, iar în procesul mutațional și al încrucișării se comportă ca unități individuale și constante, fapt dedus prin aceea că se pot recombina în organismele heterozigote și apoi separa în urma segregării, reapărînd astfel tipurile genitoare. În esență, genele se comportă întocmai ca cromozomii în procesul diviziunii celulare și al fecundației, adică își păstrează individualitatea. După cum genele se află sub formă de alele, tot așa cromozomii se află în celulele somatice sub formă de pereche, din care unul provine de la un genitor și celălalt de la alt genitor. În celulele sexuale cromozomii se află în număr haploid, adică redus la jumătate, din fiecare pereche de cromozomi existînd numai unul dintre ei. Acesta a constituit primul argument citologic în sprijinul ideii că genele sînt plasate în cromozomi.

Pe aceste argumente își fundamenta inițial teoria cromozomică T. Morgan. În curînd alte fapte aveau să subscrie ideii localizării genelor în cromozomi. Unul dintre acestea a fost evidențiat chiar de T. Morgan în studiile sale citologice efectuate la *Drosophila melanogaster*. Această insectă are un număr de opt cromozomi plasați în patru perechi diferite între ele ca formă și mărime. Analizînd la un număr mare de indivizi masculi și femeli forma și mărimea cromozomilor, T. Morgan constată că femelele au o pereche de cromozomi omologi (X X) în timp ce masculii au un singur cromozom X, perechea sa fiind înlocuită cu un cromozom neomolog numit cromozomul Y. Așadar, pre-

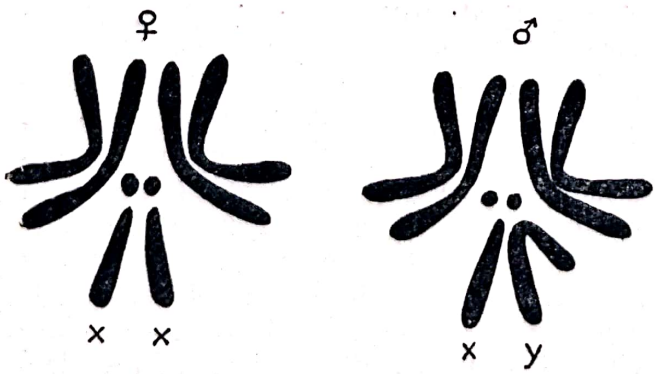



Fig. 42. Cromozomii la *Drosophila melanogaster*.

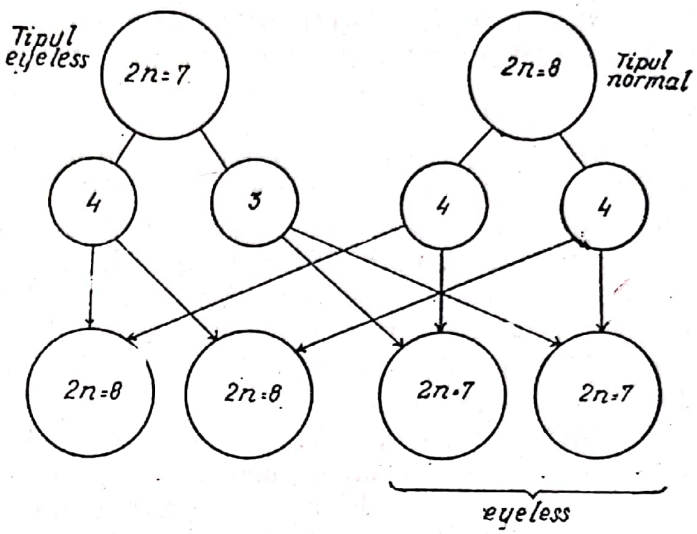



Fig. 43. Rezultatele încrucișării între un individ normal cu 2 $n = 8$ și mutanta fără ochi (eyeless) cu 2 $n = 7$ de *Drosophila melanogaster*.

zența cromozomilor XY determină sexul mascul, iar prezența perechii X X determină sexul femel. Acești cromozomi au fost denumiți *cromozomii sexului* sau *heterozomi,* spre deosebire de restul cromozomilor somatici care se numesc *autozomi.* La *Drosophila melanogaster* cromozomul X are forma unui baston, în timp ce cromozomul Y are forma unui baston frînt. Această descoperire era un argument în favoarea ideii plasării genelor pe cromozomi întrucît se pusese în evidență că o anumită structură cromozomică este corelată concret cu determinarea unui caracter important, și anume sexul.

În sfîrșit, în anul 1921 C. B. Bridges mai aduce un argument în sprijinul acestei concepții prin studiile pe care le face asupra unor mutante de *Drosophila melanogaster* unde constată corelația dintre modificarea unui caracter morfologic și prezența unui cromozom în plus sau în minus. El încrucișează un individ normal care conținea 8 cromozomi (4 perechi) cu un individ care prezenta numai 7 cromozomi deoarece din perechea a IV-a lipsea un cromozom, ceea ce determina lipsa ochilor la mutanta respectivă (eyeless). În prima generație, în loc să obțină toți indivizii normali, Bridges constată că numai jumătate sînt normali, iar jumătate sînt fără ochi. În mod similar prin încrucișarea unui individ normal cu un individ care prezintă un cromozom în plus (2 $n = 9$) se obțin în prima generație jumătate din indivizi normali și jumătate cu 9 cromozomi, modificare citologică corelată cu modificări ale aspectului indivizilor. Mutantele cu 7 cromozomi și cu 9 cromozomi apar în mod natural, spontan, printr-un proces datorat lipsei disjuncției celei de-a IV-a perechi de cromozomi în cursul diviziunii meiotice, ceea ce duce la formarea unor gameți în care $n = 3$ cromozomi și a altor gameți în care $n = 5$ cromozomi. Era încă o probă a faptului că modificări citologice în numărul cromozomilor sînt corelate cu modificări ale caracterelor organismelor și respectiv ale genelor.

## FENOMENUL DE ÎNLĂNȚUIRE A GENELOR PLASATE ÎN ACELAȘI CROMOZOM (LINKAGE)

Studiul celor peste 500 de mutante de la *Drosophila melanogaster* a dus la constatarea nu numai că genele trebuie să fie plasate în cromozomi, dar că, ținînd seama de numărul mare al genelor și numărul redus al cromozomilor, mai multe gene trebuie să fie plasate în același cromozom. Pe această bază s-a ajuns la concluzia că pe fiecare cromozom există un număr mai mare de gene și că ele se transmit împreună, înlănțuite, la descendenți. Care sînt dovezile experimentale în sprijinul acestei ipoteze ?

Încă din 1906, W. Bateson și R. C. Punnett ocupîndu-se de transmiterea caracterelor la *Lathyrus odoratus* semnalează un fenomen interesant. Ei au încrucișat două soiuri ale acestei plante, unul cu flori purpurii și grăunciori de polen alungiți și altul cu flori roșii și grăunciori de polen rotunzi, obținînd, ca și Mendel, în prima generație plante hibride cu flori purpurii și polen alungit, întrucît aceste caractere erau dominante. În generația a doua însă, segregarea nu s-a petrecut în raportul mendelian de 9 : 3 : 3 : 1, ci în alte proporții, și anume :

| Tipul plantelor | Număr de plante observate | Număr de plante calculate după Mendel |
|---|---|---|
| Flori purpurii + polen alungit | 4 331 | 3910,5 (9 : 16) |
| Flori purpurii + polen rotund | 390 | 1303,5 (3 : 16) |
| Flori roșii + polen alungit | 393 | 1303,5 (3 : 16) |
| Flori roșii + polen rotund | 1 338 | 434 (1 : 16) |

Aceste rezultate dovedeau faptul că plantele cu flori purpurii prezintă într-o măsură mai mare polen alungit, iar plantele cu flori roșii — polen rotund, în detrimentul celorlalte două variante. Așadar cele două caractere, flori purpurii și polen alungit, pe de o parte, și flori roșii și polen rotund, pe de altă parte, tind să se transmită împreună, fenomen denumit de W. Bateson *coupling* (cuplaj).

T. Morgan și colaboratorii săi constată un lucru asemănător în urma încrucișării unor mutante de *Drosophila*. De pildă, prin încrucișarea unei musculițe normale (♀) cu o musculiță (♂) care prezintă două mutații recesive : aripi vestigiale și ochi purpurii, trebuia să obțină în $F_2$ conform legilor lui Mendel 4 tipuri de indivizi : 1) normali, 2) cu aripi normale și ochi purpurii, 3) cu aripi vestigiale și cu ochi normali și 4) cu aripi vestigiale și cu ochi purpurii în proporție de 9 : 3 : 3 : 1. În loc de acestea, el a obținut în $F_2$ numai 2 tipuri de indivizi : 1) normali și 2) cu aripi vestigiale și ochi purpurii, în proporție de 519 la 552.

Constatînd că fenomenul se repetă și în cazul altor mutante, Morgan socotește că faptul se datorează plasării celor două gene (care determină caracterele de ochi purpurii și aripi vestigiale) pe același cromozom și transmiterii lor înlănțuite, fenomen pe care-l denumește *linkage* (înlănțuire).

În urma încrucișării musculițelor normale cu musculițe care prezintă concomitent două mutante, Morgan și colaboratorii săi reușesc să grupeze cele 537 de mutante în patru grupe de înlănțuire a genelor sau grupe de linkage :

Grupa I — 141 mutante
Grupa II — 228 mutante
Grupa III — 156 mutante
Grupa IV — 12 mutante

*Prin încrucișarea mutantelor care au caractere aparținînd la două grupe diferite de linkage, segregarea se petrece conform legilor mendeliene și prin încrucișarea mutantelor cu caractere aparținînd aceleiași grupe de linkage se realizează transmiterea înlănțuită a caracterelor.* De aici T. Morgan trage o concluzie logică, și anume că fenomenul de linkage se manifestă numai în cazul genelor plasate pe același cromozom, în timp ce pentru genele plasate pe cromozomi diferiți transmiterea ereditară a caracterelor se face independent, așa cum descoperise Mendel. Faptul că numărul grupelor de înlănțuire la *Drosophila melanogaster* este egal cu numărul perechilor de cromozomi constituie încă un argument în favoarea ideii plasării genelor în cromozomi. În plus, T. Morgan explică existența unui număr mai mic de mutante în grupa a IV-a de linkage, prin aceea că cromozomii din cea de-a IV-a pereche de la *Drosophila* sînt foarte mici și implicit poartă mai puține gene.

*Fenomenul de linkage constituie o teză de bază a teoriei cromozomice a eredității și constă în aceea că genele plasate pe un același cromozom se transmit la descendenți înlănțuite, în timp ce genele plasate pe cromozomi diferiți se transmit independent.* Studiul acestui fenomen a dus la stabilirea următoarelor grupe de linkage la primele specii cercetate :

| Speciile | Nr. grupelor de linkage | Nr. perechilor de cromozomi |
|---|---|---|
| *Drosophila melanogaster* | 4 | 4 |
| *Drosophila willistoni* | 3 | 3 |
| *Drosophila obscura* | 5 | 5 |
| *Drosophila pseudoobscura* | 5 | 5 |
| *Drosophila virilis* | 6 | 6 |
| *Zea mays* | 10 | 10 |
| *Lathyrus odoratus* | 7 | 7 |

La unele specii însă, numărul de grupe de linkage este mai mic decît numărul de perechi de cromozomi, din cauză că se cunosc un număr relativ mai redus de mutante și o parte din grupele de linkage n-au fost descoperite încă. De pildă, la tomate *(Solanum lycopersicon)* la care $2n = 24$ nu se cunosc pînă în prezent decît 10 grupe de linkage, la șoarece *(Mus musculus)* la care $2n = 40$ sînt cunoscute numai 16 grupe de linkage, iar la iepure *(Oryctolagus cuniculus)* la care $2n = 44$ sînt cunoscute de-abia 11 grupe de linkage.

Iată cîteva din genele mai bine studiate de la *Drosophila melanogaster* aparținînd celor 4 grupe de linkage corespunzătoare celor 4 perechi de cromozomi (după Sinnott, Dunn și Dobzhansky, 1958) * :

| Perechea I de cromozomi (cromozomii sexului) | Perechea a II-a de cromozomi | Perechea a III-a de cromozomi | Perechea a IV-a de cromozomi |
|---|---|---|---|
| yellow body (y) | net veins (net) | roughoid eyes (ru) | shaven bristles (sv) |
| scute bristles (sc) | aristaless (al) | veinlet wing (w) | cubitus-interrup- |
| silver body (svr) | ochracea eyes (ocr) | Rougened eyes (R) | tus venation (ci) |
| broad wing (br) | Star eyes (S) | javelin bristles (jv) | |
| prune eyes (pn) | hel dont (ho) | sepia eyes (se) | |
| white eyes (w) | echinoid eyes (ed) | hairy body (h) | grosveless scutellum (gvl) |
| facet eyes (fa) | fat body (ft) | approximated veins (app) | eyeless (ey) |
| echinus eyes (ec) | dumpy wing (dp) | Glued eyes (Gl) | |
| bifid veins (bi) | clot eyes (cl) | thread arista (th) | |
| ruby eyes (rb) | Jammed wing (J) | scarlet eyes (st) | |
| crossveinless (cv) | black (b) | clipped wing (cp) | |
| roughex eyes (Rux) | reduced bristles (rd) | Wrinkled wing (W) | |
| carmine eyes (cm) | purple eyes (pr) | interned bristles (in) | |
| cut wing (ct) | Bristle short (Bl) | radius-incompletus veins (ri) | |
| singed bristles (sn) | light eyes (it) | pink eyes (p) | |
| lozenge eyes (lz) | straw body (stw) | blistery wing (by) | |
| raspberry eyes (ras) | tarsi fused (ti) | curled wing (cu) | |
| vermilion eyes (v) | cinnabar eyes (cn) | | |
| | engrailed (en) | | |

* Literele mari indică mutațiile dominante, iar literele mici indică mutațiile recesive.

Scanned with OKEN Scanner

| Perechea I de cromozomi (cromozomii sexului) | Perechea a II-a de cromozomi | Perechea a III-a de cromozomi | Perechea a IV-a de cromozomi |
|---|---|---|---|
| miniature wing (m) | scabrous eyes (sca) | mussed wing (mu) | |
| chesky wing (dy) | vestigial wing (vg) | kermoizin eyes (ker) | |
| sable body (s) | Lobe eye (L) | Stubble bristles (Sb) | |
| gamet eye (g) | curved wing (c) | spincless bristles (ss) | |
| scalloped wing (sd) | plexus veins (px) | Roof wing (Rf) | |
| uneven eyes (un) | brown eyes (bw) | stripe thorax (sr) | |
| forked bristles (f) | speck wing (sp) | glass eyes (gl) | |
| Bar eyes (B) | | Delta veins (Dl) | |
| Beadex wing (Bx) | | Hairless bristles (H) | |
| fused veins (fu) | | ebony body (e) | |
| carnation eyes (car) | | Prickly bristles (pr) | |
| bobbed bristles (bb) | | rough eyes (ro) | |
| | | Beaded wing (Bd) | |
| | | claret eyes (ca) | |
| | | brevis bristless (bv) | |

Aceste două prime teze ale lui T. Morgan, și anume localizarea genelor în cromozomi și transmiterea înlănțuită a genelor plasate pe același cromozom au constituit temelia pe care s-a clădit și s-a dezvoltat teoria cromozomică a eredității. Ea a apărut ca o necesitate ce se ridică tot mai stringent pe măsură ce înmulțirea cercetărilor de genetică și descoperirea unor serii întregi de cazuri de transmitere a caracterelor după alte proporții decît cele preconizate de Mendel făcea insuficientă explicația mendelistă referitoare la segregarea caracterelor. Ea a constituit deci o adaptare a geneticii teoretice la acumularea unui număr mare de date experimentale în primele decenii ale secolului nostru.

Scanned with OKEN Scanner

## RECOMBINAREA GENELOR ÎNTRE CROMOZOMII PERECHE (CROSSING-OVER)

Studiul mecanismului de transmitere ereditară a arătat că nu întotdeauna genele ce fac parte din aceeași grupă de linkage, adică sînt plasate în același cromozom, se transmit înlănțuite și că de la acest fenomen există o seamă de excepții. Pentru a explica aceste excepții, s-a ajuns la concluzia că *între cromozomii pereche are loc un schimb reciproc de gene, adică o recombinare genetică, fenomen care a primit denumirea de crossing-over.* Cercetări efectuate la diferite specii au evidențiat experimental justețea acestui punct de vedere.

### Crossing-overul la Drosophila melanogaster

La *Drosophila melanogaster* femela prezintă doi cromozomi ai sexului identici (X X), iar masculul doi cromozomi diferiți (X Y). Prin încrucișarea unei femele care prezintă concomitent două mutații recesive, și anume corpul galben *(y)* și ochii albi *(w),* gene plasate pe cromozomii sexului *(X y w X y w)* cu un mascul normal cu corpul gri și ochii roșii *(X $y^+$ $w^+$ Y)** s-a obținut în prima generație ($F_1$) femele heterozigote *(X y w X $y^+$ $w^+$)* normale și masculi ce prezintă ambele mutante *(X y w Y)**. Prin încrucișarea indivizilor masculi și femeli din $F_1$ s-au obținut următoarele rezultate, prezentate în cazul unei descendențe formate din 100 de indivizi femeli și 100 de indivizi masculi :

| ♀ \ ♂ | X (y w) | Y |
|---|---|---|
| X (y w) | X (y w) X (y w) 49,25% | X (y w) Y 49,25% |
| X (y+ w+) | X (y+ w+) X (y w) 49,25% | X (y+ w+) Y 49,25% |
| X (y w+) | X (y w+) X (y w) 0,75% | X (y w+) Y 0,75% |
| X (y+ w) | X (y+ w) X (y w) 0,75% | X (y+ w) Y 0,75% |

În $F_2$ ar fi trebuit să se obțină în proporții egale indivizi femeli și masculi care prezintă fenotipic corp galben și ochi albi (50%), corp gri și ochi roșii (50%). După cum reiese din datele tabelului de mai sus au

* Adesea genele ce reprezintă mutații recesive se notează cu litere mici, iar timpul normal „sălbatic" se notează cu litere mici cu semnul plus (+).

apărut însă în proporții reduse (1,5%) femele și masculi cu corp galben și ochi roșii sau cu corp gri și ochi albi. Aceasta înseamnă că între genele $y$ și $y^+$, pe de o parte, între $w$ și $w^+$, pe de alta, s-a produs o recombinare datorită faptului că genele $y$ $w$ plasate pe un cromozom X și $y^+$ $w^+$ plasate pe celălalt cromozom X nu s-au mai transmis înlănțuite, ci s-au separat una de alta. Ca urmare, în loc ca descendența să fie formată din indivizi complet normali sau din indivizi ce prezintă concomitent două mutații, a fost formată și din indivizi la care cele 2 gene $y$ $w$ s-au separat și prezentau o singură mutație (corp galben sau ochi albi). Această recombinare genetică se datorește schimbului de gene alele între cromozomii pereche, adică fenomenului de crossing-over.

Fenomenul de crossing-over nu se manifestă însă numai la genele de pe cromozomii sexului, ci și la autozomi. Tot la *Drosophila melanogaster* s-a studiat modul de transmitere ereditară a caracterelor la două mutante, ale căror gene erau plasate pe perechea II de cromozomi, și anume : una care prezenta aripi vestigiale *(vg)* și corp normal *($b^+$)* și alta cu aripi normale *($vg^+$)* și corp negru *(b)*. Prin încrucișarea femelei

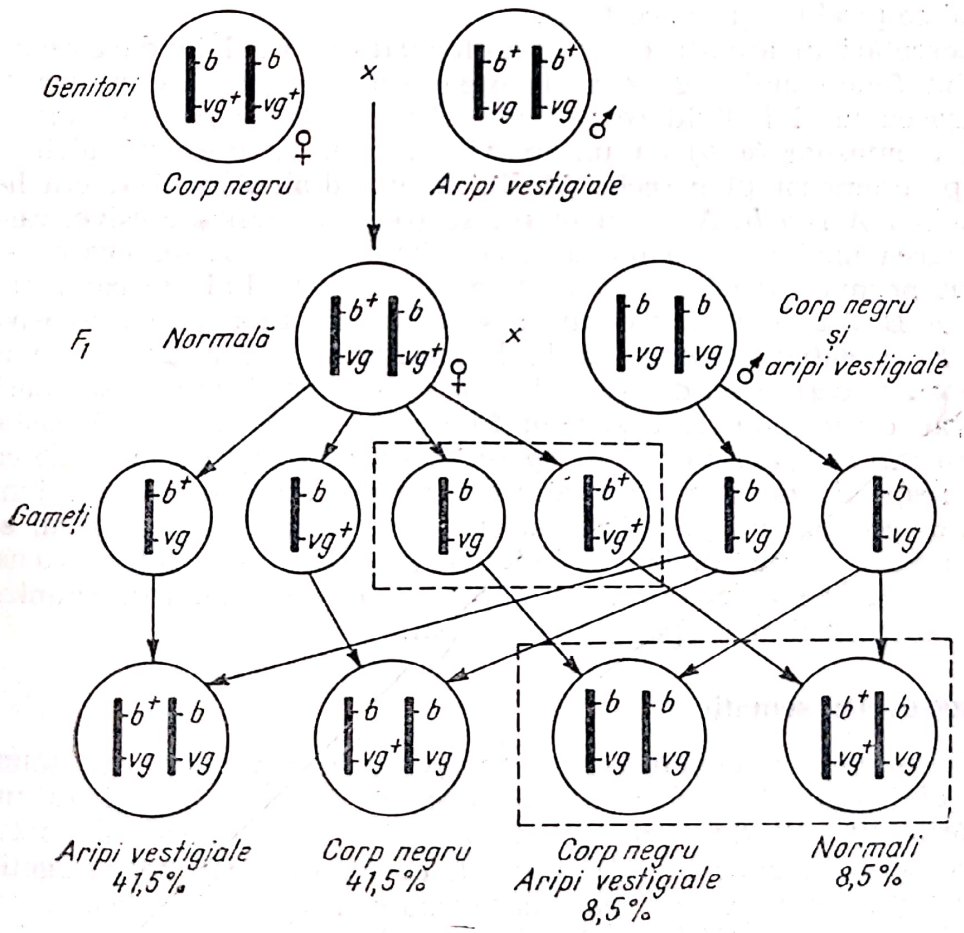



Fig. 44. Fenomenul crossing-over la încrucișarea între o mutantă cu corpul negru și una cu aripi vestigiale de la *Drosophila melanogaster*.

*vg b*$^+$/*vg b*$^+$ cu un mascul *vg*$^+$ *b*/*vg*$^+$*b* în prima generație au apărut numai indivizi normali (aripile normale și corpul colorat normal fiind caractere dominante). În continuare, o femelă obținută în prima generație după încrucișare a fost retroîncrucișată (back-cross) cu un mascul care prezenta ambele mutante (aripi vestigiale și corp negru, *vg b*/*vg b*). În loc să rezulte jumătate din descendenți cu aripi vestigiale și corp normal și jumătate cu aripi normale și corp negru, se obțin 41,5% din indivizi cu aripi vestigiale și corp normal, 41,5% cu aripi normale și corp negru, 8,5% cu aripi și corp normale și 8,5% cu aripi vestigiale și corp negru. Apariția ultimelor două categorii de indivizi se datorește evident tot unui fenomen de recombinare genetică datorită schimbului de gene între cromozomii pereche.

## Crossing-overul la Neurospora crassa

Studiul segregării în urma hibridării la organisme la care ciclul de viață este complet diferit predominînd haplofaza, cum este ascomiceta *Neurospora crassa*, a arătat că recombinarea genetică datorită crossing-overului se produce și în acest caz.

Cercetări în această direcție a efectuat C. C. Lindegren, care a studiat fenomenul segregării la organisme heterozigote provenite din încrucișarea unui individ ce prezenta două mutante recesive plasate pe același cromozom *(a b)* cu un individ normal ce prezenta alele dominante pe cromozomul pereche *(A B)*. Zigotul diploid realizat era heterozigot, adică *A B*/*a b*. Acest zigot suferă trei diviziuni succesive, care duc la formarea unei asce cu opt ascospori haploizi. Dacă segregarea s-ar fi petrecut normal, adică dacă s-ar fi manifestat un linkage complet între genele *A B* și *a b*, ar fi trebuit să se obțină în final patru ascospori de tip *A B* și patru ascospori *a b*. În realitate s-au obținut numai cîte doi ascospori care erau de tip *A B* și *a b*, precum și cîte 2 ascospori care prezentau o recombinare a genelor fiind de tip *a B* și *A b*. Aceasta probează că între cei doi cromozomi pereche s-a produs un schimb de cromatide și respectiv de gene. Deoarece din cei opt ascospori numai jumătate purtau o recombinare genetică, s-a mai dovedit că crossing-overul a avut loc în cursul primei diviziuni meiotice (în stadiul de patru cromatide), întrucît dacă el s-ar fi produs în timpul celei de-a doua diviziuni meiotice toți ascosporii ar fi apărut recombinați.

## Crossing-overul somatic

Recombinarea genetică s-a constatat că se produce nu numai în cursul diviziunii de reducere cromozomală (meioza), ci și în mitoză. Cercetările lui C. Stern la *Drosophila melanogaster* au arătat că prin încrucișarea unor indivizi normali ca fenotip, dar heterozigoți pentru două gene recesive *y*$^+$ *sn*/*y sn*$^+$ (gena *y* determină culoarea galbenă a corpului, iar gena *sn* determină lipsa perilor de pe corp), una din gene fiind plasată pe un cromozom X, iar cealaltă pe cromozomul X pereche, în procesul diviziunii mitotice apar celule homozigote pentru

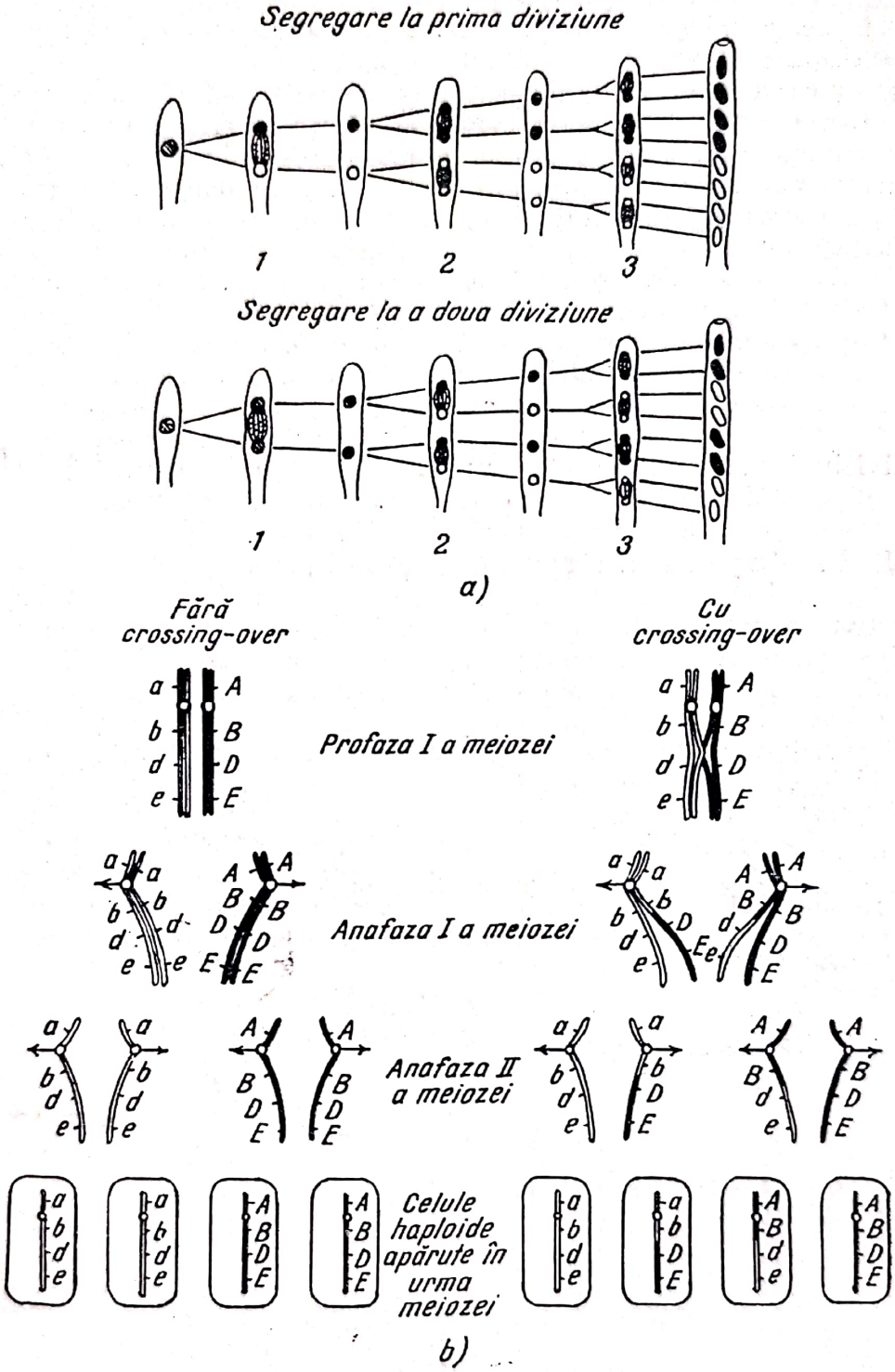



Fig. 45. Segregarea la prima sau la a doua diviziune meiotică la *Neurospora crassa* (a) și meioza cu sau fără crossing-over (b) (după Emerson, 1955).

gena *y* (*y sn/y sn*$^+$) sau pentru gena *sn* (*y*$^+$ *sn/y sn*). Din această cauză indivizii respectivi prezintă fenomenul de mozaicism, avînd regiuni pe corp de culoare galbenă sau lipsite de pori.

De curînd o probă citologică incontestabilă a existenței crossing-overului somatic a adus-o geneticianul american J. H. Taylor (1957), care a studiat prin *metoda microradioautografiei* diviziunea celulară la planta *Bellevalia romana*, care are 2 *n* = 8. El a pus pentru aproximativ 8 ore rădăcinile tinere (în care celulele se aflau în diviziune mitotică) într-o soluție nutritivă, la care a adăugat timidină marcată cu izotopul radioactiv al hidrogenului, și anume tritiu ($H^3$), care prin dezintegrare dă heliu și emite particule de slabă energie, ce impresionează placa fotografică. După aceea rădăcinile au fost scoase și puse într-o soluție nutritivă fără timidină marcată, adică într-un „mediu rece", la care s-a adăugat colchicină ce blochează diviziunea celulelor, dar nu blochează clivajul cromozomilor. În felul acesta, el a putut determina cîte diviziuni ale cromozomilor au avut loc după scoaterea rădăcinilor din mediul radioactiv. După cîteva ore a început efectuarea preparatelor microscopice, care erau acoperite cu plăci fotografice.

J. H. Taylor a arătat că în prima metafază ce urmează după punerea rădăcinilor în mediul rece, ambii cromozomi ai unei perechi sînt radioactivi în mod egal. În metafaza celei de-a doua diviziuni se constată însă că în fiecare cromozom se află o cromatidă radioactivă și alta rece. J. H. Taylor a observat că organizarea cromozomilor nu rămîne întotdeauna intactă pe toată lungimea lor, ci uneori în cursul acestei diviziuni se petrece un schimb de fragmente de cromatide între cromatidele surori, astfel încît unele celule prezintă un cromozom „rece" în întregime și altul în marea lui majoritate „cald", dar la un capăt „rece", și alte celule au un cromozom în întregime „cald" și altul „rece", dar la un capăt „cald". Pe această experiență în care s-a realizat marcarea radioactivă a cromozomilor s-a dovedit că s-a petrecut un crossing-over, ceea ce a dus la schimbul de segmente de cromatide constatat.

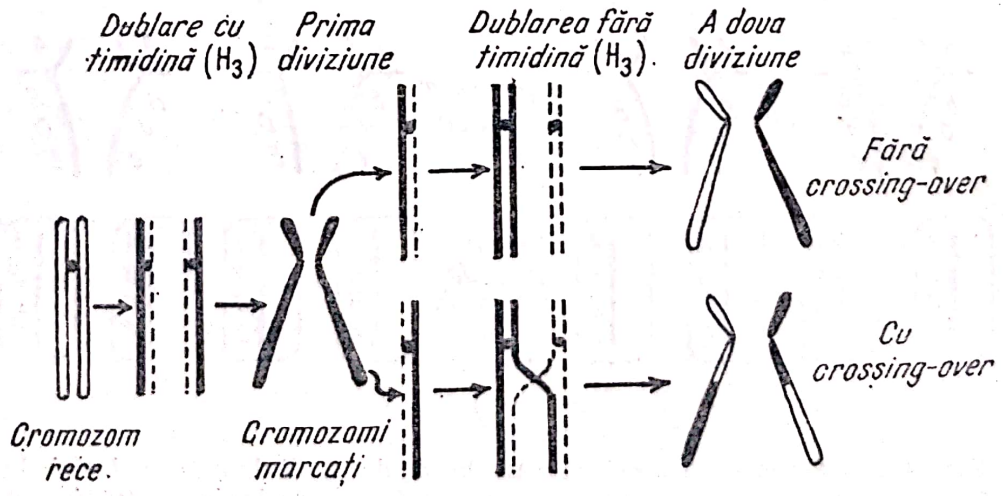



Fig. 46. Schema experienței lui J. H. Taylor prin care s-a pus în evidență crossing-overul somatic prin metoda microradioautografiei.

## Mecanismul citologic al crossing-overului

Cercetările de genetică au demonstrat experimental că în urma încrucișării are loc un schimb de gene între cromozomii pereche, care determină recombinarea genetică. Ceea ce trebuia însă lămurit era mecanismul citologic al crossing-overului, adică modul cum se desfășoară acest fenomen la nivelul cromozomilor.

În linii cu totul generale, mecanismul crossing-overului este următorul : în timpul diviziunii reducționale (meioză) cromozomii omologi se apropie foarte mult și cromatidele lor se pot atinge în unul sau mai multe puncte, denumite *chiasme*. În aceste puncte de contact cromatidele se pot rupe, și între cromozomii pereche are loc un *schimb de segmente de cromatide*. Dacă pe aceste segmente se află localizate gene diferite, schimbul unor fragmente de cromozomi înseamnă totodată schimbul de gene între cromozomii pereche, adică crossing-over. Pentru explicația citologică a crossing-overului au fost elaborate mai multe teorii, cum este, de pildă, teoria chiasmatipiei, elaborată de F. A. Jannsens (1909 și 1924) și dezvoltată de C. D. Darlington și K. Mather (1932).

În conformitate cu *teoria chiasmatipiei* se consideră că în profaza meiozei, între leptonem și pachinem, cromozomii omologi (unul de origine maternă și unul de origine paternă) se împerechează datorită atracției provocate de faptul că conțin gene alele, formînd o *sinapsă*. Între pachinem și diplonem cromozomii se clivează longitudinal, încît fiecare apare format din două cromatide. Între cele patru cromatide ale unei perechi de cromozomi omologi există puncte de contact denumite *chiasme*, astfel că între ele se poate realiza un schimb de fragmente de cromatide sau *chiasmata*. S-a constatat citologic că are loc un schimb de fragmente de cromatide de dimensiuni egale. Ca urmare, cromozomii ce migrează la polii celulei în urma primei diviziuni meiotice pot purta fragmente

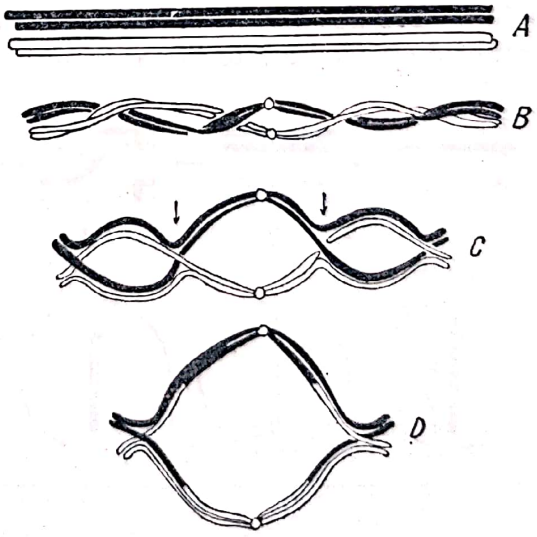



Fig. 47. Teoria chiasmatipiei pentru explicarea fenomenului de crossing-over. Diferite faze ale meiozei (după Swanson, 1965).

de cromatide și respectiv gene ce provin de la cromozomii omologi. După teoria chiasmatipiei, fenomenul de crossing-over are loc înaintea fazei de diplonem, astfel că chiasmele ce se observă citologic sînt de fapt puncte în care s-a realizat schimbul de segmente de cromatide.

Studiul citologic al meiozei a mai evidențiat un fapt important, și anume că o chiasmă afectează numai 2 cromatide din cele 4 ale unei perechi de cromozomi, iar celelalte 2 cromatide își păstrează tipul inițial. Aceasta înseamnă că din cei 4 cromozomi care rezultă prin clivajul unei perechi de cromozomi în meioză, numai 2 cromozomi pot prezenta crossing-over și respectiv recombinări genetice. Ca urmare, frecvența crossing-overului între 2 cromozomi omologi nu poate depăși 50%. La plantele și animalele superioare acest fenomen este mai dificil de evidențiat citologic, însă el a fost foarte bine studiat la *Neurospora crassa* la care ascosporii produși în urma meiozei pot fi studiați individual.

Un alt fenomen important remarcat atît în urma cercetărilor genetice cît și citologice îl constituie faptul că între cromatide pot avea loc mai multe chiasme, mai ales în cazul cromozomilor mai lungi, și ca urmare poate apărea fenomenul de *crossing-over dublu, crossing-over triplu* etc.

Cercetările citologice ale lui K. Mather (1937) la lăcustele din genul *Stenobothrus,* la care cromozomii au mărimi foarte variabile, au dus la concluzia că *între lungimea cromozomilor și numărul mediu de chiasme există o strînsă corelație.* Astfel, la cromozomii foarte scurți există o singură chiasmă, în timp ce la cromozomii mai lungi numărul de chiasme crește proporțional cu lungimea. În ceea ce privește repartiția chiasmelor de-a lungul cromozomilor, s-a constatat că aceasta se face după anumite reguli. Astfel, *prima chiasmă apare, de obicei, la o distanță anumită de centromer, denumită distanță diferențială.* Această distanță este mai mică la cromozomii mai scurți și mai mare la cei mai lungi. *Diferitele chiasme de pe un același braț cromozomic sînt separate între ele prin intervale anumite, care se cheamă distanțe de interferență.* La o anumită specie, aceste distanțe sînt constante.

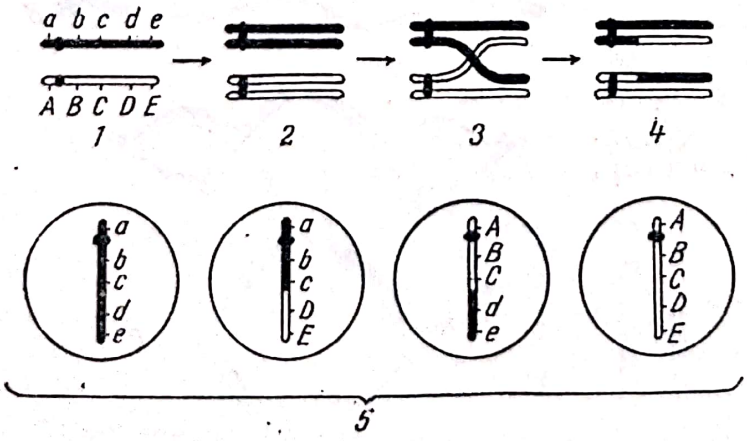



Fig. 48. Fenomenul de crossing-over în cazul unei perechi de cromozomi. Din cei 4 gameți rezultați numai 2 sînt afectați de recombinare genetică.

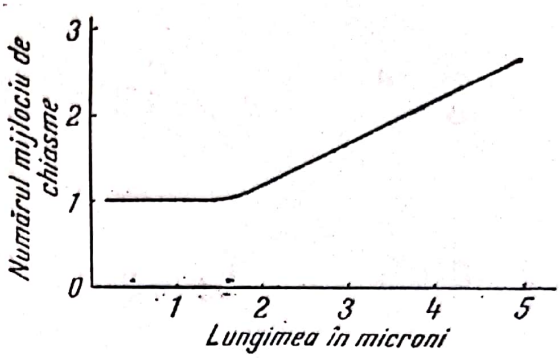



Fig. 49. Corelația dintre lungimea cromozomilor și numărul de chiasme (după M a t h e r, 1937).

Dacă se ține seama că o pereche de cromozomi omologi este alcătuită din patru cromatide, schimbul de segmente în cazul uneia sau a două chiasme consecutive poate fi de cinci tipuri. Astfel, în cazul primului tip, la două cromatide are loc un crossing-over, iar celelalte două cromatide rămîn intacte. La tipul al doilea sînt afectate două cromatide de un crossing-over dublu, în cazul tipului al treilea toate cele 4 cromatide sînt afectate de un crossing-over, în cazul tipului al patrulea și al cincilea o cromatidă este afectată de crossing-over dublu, două cromatide sînt afectate de crossing-over simplu și a patra cromatidă rămîne intactă.

O problemă ce a rămas multă vreme nelămurită și care nici în prezent nu este pe deplin elucidată este cea privind *forțele care determină ruperea cromatidelor și respectiv schimbul de fragmente de cromatide între cromozomii pereche.* Pentru a explica acest fenomen, C. D. D a r l i n g t o n (1935) a emis ipoteza că segmentarea celor doi cromozomi omologi se datorește faptului că în stadiul de zigonem ei sînt răsuciți strîns unul în jurul altuia și că prin aceasta se creează o tensiune mai mare asupra cromatidelor externe în raport cu cele interne. Ca urmare, acestea se rup, se derulează parțial și apoi se sudează, în cadrul aceleiași cromatide, astfel că fenomenul de crossing-over nu are loc, sau cu cromatida pereche a cromozomului și crossing-overul apare. Din aceasta reiese că, în cazul segmentării cromatidelor, probabilitatea de a se manifesta fenomenul de crossing-over este de 50%.

Mai tîrziu, în 1942, M. J. D. W h i t e a emis o altă ipoteză pentru explicarea aceluiași fenomen. Această ipoteză pornește de la premisa că, în timp ce are loc fenomenul de sinapsă, între cromatidele celor doi cromozomi omologi există o atracție. Ulterior însă, această atracție se transformă în repulsie, o dată cu clivarea cromozomilor. În stadiul de diachineză, cromozomii omologi prezintă bucle succesive, datorită faptului că fisurarea lor este împiedicată de prezența chiasmelor. Ca urmare, se pot întîlni cazuri cînd se suprapun zone în care are loc atracția cu zone în care are loc repulsia cromatidelor. În urma acestei tensiuni, cromatidele interne se pot rupe și se sudează invers, astfel că are loc schimbul de segmente de cromatide între cromozomii pereche.

Scanned with OKEN Scanner

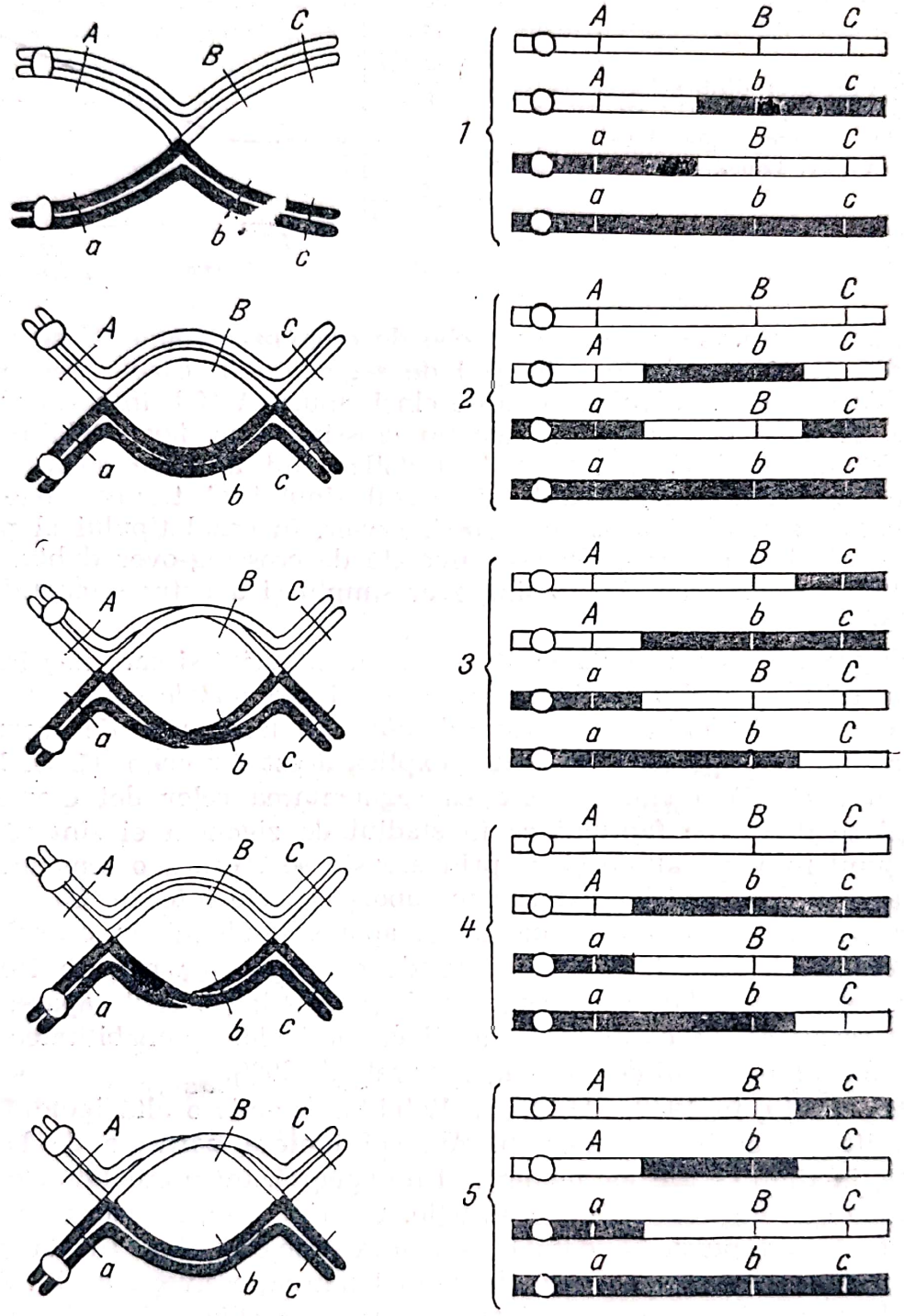



Fig. 50. Tipurile de crossing-over (după Sinnot, Dunn și Dobjhansky, 1958).

Scanned with OKEN Scanner

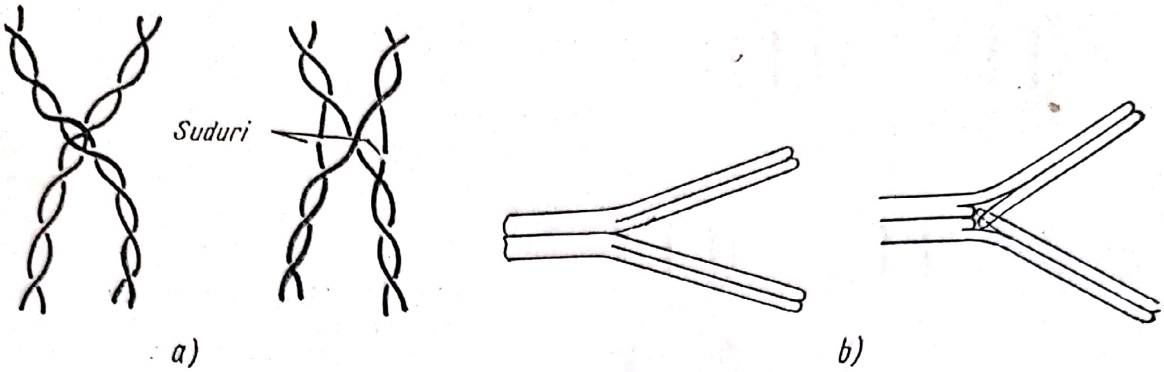



Fig. 51. Mecanismul citologic al crossing-overului după Darlington (a) și după White (b).

## ABSENȚA CROSSING-OVERULUI LA UNELE SEXE

Cercetările lui C. B. Bridges la *Drosophila melanogaster* au dus la descoperirea faptului că la masculi fenomenul de crossing-over lipsește complet sau este extrem de rar. Ulterior s-a descoperit că la viermele de mătase *(Bombyx mori)* crossing-overul este absent la femele și prezent la masculi.

Un exemplu foarte interesant de absența crossing-overului la masculi a fost remarcat la *Drosophila melanogaster* prin încrucișarea a două mutante recesive : una cu corpul negru *(b)* și alta cu aripi vestigiale *(vg)*, gene plasate pe cromozomul II și care se transmit deci înlănțuite. Prima generație $F_1$ era fenotipic normală, însă heterozigotă *($b^+$ vg/b $vg^+$)*. Prin încrucișarea femelelor din $F_1$ cu masculi ce prezintă ambele mutante fiind dublu recesivi *(b vg/b vg)*, adică dacă se face retroîncrucișare (backcross), se obțin următoarele 4 categorii de indivizi în $F_2$ :

| | | |
|---|---|---|
| — corp normal și aripi vestigiale | (41,5%) | fără crossing-over |
| — corp negru și aripi normale | (41,5%) | fără crossing-over |
| — corp normal și aripi normale | ( 8,5%) | cu crossing-over |
| — corp negru și aripi vestigiale | ( 8,5%) | cu crossing-over |

Recombinarea genetică datorită fenomenului de crossing-over este astfel prezentă la 17% dintre indivizi.

Dacă însă se încrucișează indivizii masculi normali, dar heterozigoți *($b^+$ vg/b $vg^+$)* din $F_1$ cu femele dublu recesive homozigote *(b vg/b vg)* nu rezultă decît 2 tipuri de indivizi :

— corp normal și aripi vestigiale (50%)
— corp negru și aripi normale (50%)

Aceasta demonstrează că la masculii de *Drosophila melanogaster* crossing-overul este absent și ca urmare nu se produce recombinare genetică. Studii genetice efectuate și la alte specii de *Drosophila* au demonstrat absența crossing-overului la masculi.

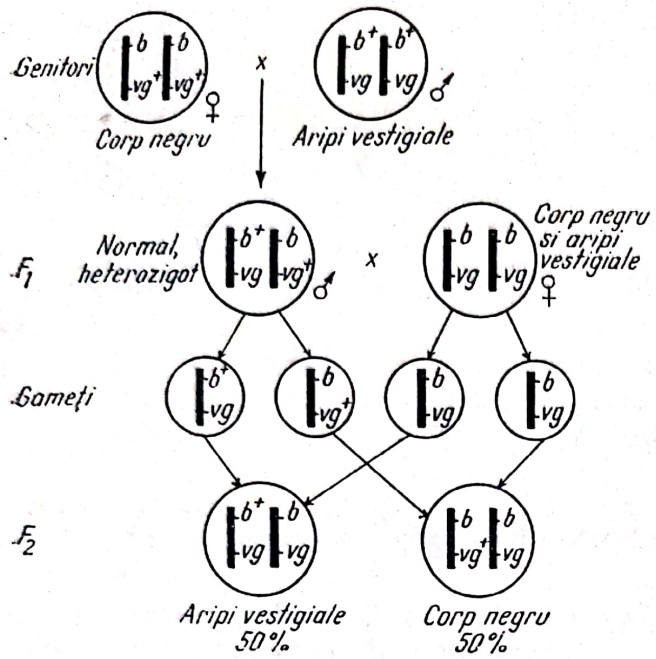



Fig. 52. Absența crossing-overului la masculii de *Drosophila melanogaster*.

Cum se explică din punct de vedere citologic absența crossing-overului la masculii de *Drosophila?* Studiul spermatogenezei a arătat un fapt interesant, și anume că deși cromozomii omologi se împerechează normal formînd bivalenți în spermatocite, totuși între cele patru cromatide dispuse paralel nu are loc nici o chiasmă și respectiv nici un schimb de fragmente de cromatide. Ulterior cromatidele devin cromozomi independenți și migrează fiecare într-un gamet ce devine apoi spermatozoid. Dimpotrivă, studiul citologic al ovogenezei la femelele de *Drosophila* a demonstrat prezența chiasmelor și respectiv a fenomenului crossing-over. Ulterior s-a descoperit că prin tratamentul cu raze X fenomenul de crossing-over apare și la masculi, probabil prin modificări morfo-funcționale în procesul spermatogenezei.

*În general s-a constatat că frecvența crossing-overului este influențată de mai mulți factori, și anume : temperatura, radiațiile, compoziția chimică a hranei și vîrsta indivizilor.* De pildă, la *Drosophila melanogaster* la femelele mai în vîrstă se reduce procentul de crossing-over comparativ cu femelele mai tinere.

## PLASAREA LINIARĂ A GENELOR ÎN CROMOZOMI

Pe baza descoperirilor anterioare privind așezarea genelor în cromozomi, fenomenelor de transmitere înlănțuită a genelor de pe un același cromozom și de recombinare genetică, s-a pus problema determinării modului de plasare a genelor în cromozomi și a distanței dintre ele. Pentru aceasta s-a pornit de la raționamentul logic că dacă două gene

de pe același cromozom sînt plasate mai departe una de alta, frecvența chiasmelor și respectiv a crossing-overelor este mai mare decît în cazul că cele două gene ar fi așezate alăturat.

Frecvența crossing-overelor constatate între aceste două gene a fost utilizată ca unitate de recombinare ce exprimă o anumită distanță între gene întrucît din experiențele de încrucișare efectuate între diferite mutante ce făceau parte din aceeași grupă de linkage s-au obținut diferite valori ale procentului crossing-overelor. De pildă, la *Drosophila melanogaster*, din grupa a doua de înlănțuire a genelor fac parte mutantele recesive corp negru *(b)*, aripi vestigiale *(vg)* și aripi îndoite *(c)*. Se pune întrebarea, care este raportul spațial pe cromozomul II între cele trei gene care determină aceste caractere ? El poate fi tridimensional (să determine o sferă, un cub, o prismă sau un poliedru) sau bidimensional (să determine un cerc, o elipsă, un triunghi sau o linie). Pentru a deduce acest lucru este necesar să se determine distanțele între locii (locul de plasare a genelor) a cel puțin trei gene între care de obicei se manifestă linkage și ca o excepție crossing-over. Prin încrucișarea unor indivizi ce prezintă mutațiile *b* și *c* cu indivizi normali s-au obținut circa 27% de indivizi la care aceste gene nu s-au transmis înlănțuite datorită crossing-overului. În cazul încrucișării între indivizi normali cu indivizi ce prezintă mutantele *c* și *vg* s-a obținut un procent de 8,5% recombinări.

Așadar între locii genelor *b* și *c* distanța de recombinare este de 27, iar între locii genelor *c* și *vg* distanța de recombinare este de 8,5. Pentru a determina poziția genei *vg* față de celelalte două, s-au efectuat încrucișări între indivizi normali cu indivizi ce prezintă cele două mutații *b* și *vg*, constatîndu-se că între ele fenomenul de crossing-over are o frecvență de 18,5%, ceea ce exprimă distanța dintre locii respectivi. Dacă gena *vg* ar fi plasată pe cromozom dincolo de gena *c*, ar fi trebuit să se obțină un procent de recombinare de 35,5%. Aceasta înseamnă că gena *vg* este plasată între genele *b* și *c*, deoarece din însumarea distanțelor dintre *b* și *vg* (18,5%) și dintre *vg* și *c* (8,5%) rezultă exact distanța dintre *b* și *c* (27%). De aici s-a tras concluzia că *genele sînt plasate liniar pe cromozomi, descoperire care constituie o teză de bază a teoriei cromozomice a eredității.*

În cazul în care distanța între genele de pe un același cromozom este mai mare, devine posibilă apariția crossing-overului dublu, care reduce procentul apariției crossing-overelor simple între două gene cu peste 50%. Iată un exemplu din lucrările lui M. M. Rhoades efectuate la *Zea mays*, citat după H. P. Riley (1949). La porumb există trei mutante recesive determinate de gene plasate pe cromozomul V care ar trebui să se transmită înlănțuite, însă din cauza fenomenului de cros-

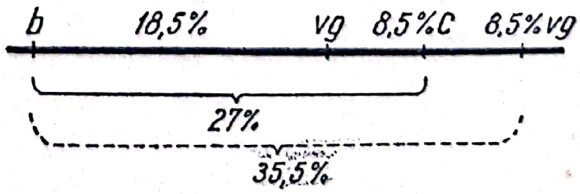



Fig. 53. Plasarea genelor *b*, *vg* și *c* pe cromozom.

sing-over simplu și dublu, ele se separă cu o frecvență destul de mare. Cele trei gene recesive care duc la apariția acestor mutante sînt *brown midrib* — adică nervura centrală a frunzelor de culoare brună *(bm)*, *red alurone* — aleurona din bob de culoare purpurie *(pr)* și *virescent* — plăntuțele de culoare verde-deschis sau galben *(v)*. Prin încrucișarea unor plante care prezintă concomitent cele trei mutante *(bm pr v/bm pr v)* cu plante normale (+++/+++) s-au obținut în $F_1$ plante heterozigote cu habitusul normal (+++/ *bm pr v*). Aceste plante heterozigote au fost retroîncrucișate cu plante care prezentau cele trei mutații : *(bm pr v/ bm pr v)* ; din încrucișare urma să se obțină conform legilor lui Mendel 50% plante normale heterozigote și 50% plante cu caractere recesive, homozigote. În realitate s-au obținut următoarele categorii de plante (după fenotip) :

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| + | + | + | 232 plante | total 467 plante de tip parental, adică 42,11%. |
| *bm* | *pr* | *v* | 235 plante | |
| + | *pr* | *v* | 84 plante | total 161 plante care prezintă crossing-over între *bm* și *pr*, adică 14,52%. |
| *bm* | + | + | 77 plante | |
| + | + | *v* | 201 plante | total 395 plante care prezintă crossing-over între *pr* și *v*, adică 35,62%. |
| *bm* | *pr* | + | 194 plante | |
| + | *pr* | + | 40 plante | total 86 plante care prezintă crossing-over dublu, adică 7,75%. |
| *bm* | + | *v* | 46 plante | |

Dacă luăm în considerare crossing-overul între genele *bm* și *pr*, atunci la cele 161 de plante din această grupă trebuie să adăugăm și cele 86 de plante cu crossing-over dublu care prezintă crossing-over între cele două gene. Numărul total de plante din acest tip este de 247, ceea ce reprezintă 22,27% (14,52 + 7,75 = 22,27%).

De asemenea, dacă luăm în considerare crossing-overul între genele *pr* și *v*, atunci la cele 395 de plante din grupa respectivă trebuie să adăugăm cele 86 de plante cu crossing-over dublu care prezintă crossing-over între aceste două gene. Numărul total de plante este de 481, adică 43,37% (35,62 + 7,75 = 43,37%).

În sfîrșit, dacă luăm în considerare crossing-overul între genele *bm* și *v* omițînd gena *pr*, atunci din această grupă fac parte toate plantele care prezintă crossing-over simplu, adică 556 de plante, ceea ce înseamnă 50,14% (14,52 + 35,62 = 50,14%).

Însumînd distanțele dintre cele 3 gene de pe cromozomul respectiv, se poate ușor constata că datele respective vin în contradicție cu legile matematicii : 22,27% + 43,37% ≠ 50,14%.

Aceste date arată că atunci cînd se iau în considerare gene situate pe un același cromozom, dar la distanțe mai mari, numărul de recombinări se reduce datorită crossing-overului dublu. În cazul nostru, la cele 556 de plante care prezintă crossing-over între *bm* și *v* trebuie să adăugăm cele 86 de plante care prezintă crossing-over dublu, însă multiplicate cu doi, deoarece fiecare crossing-over dublu înseamnă de fapt două

Scanned with OKEN Scanner

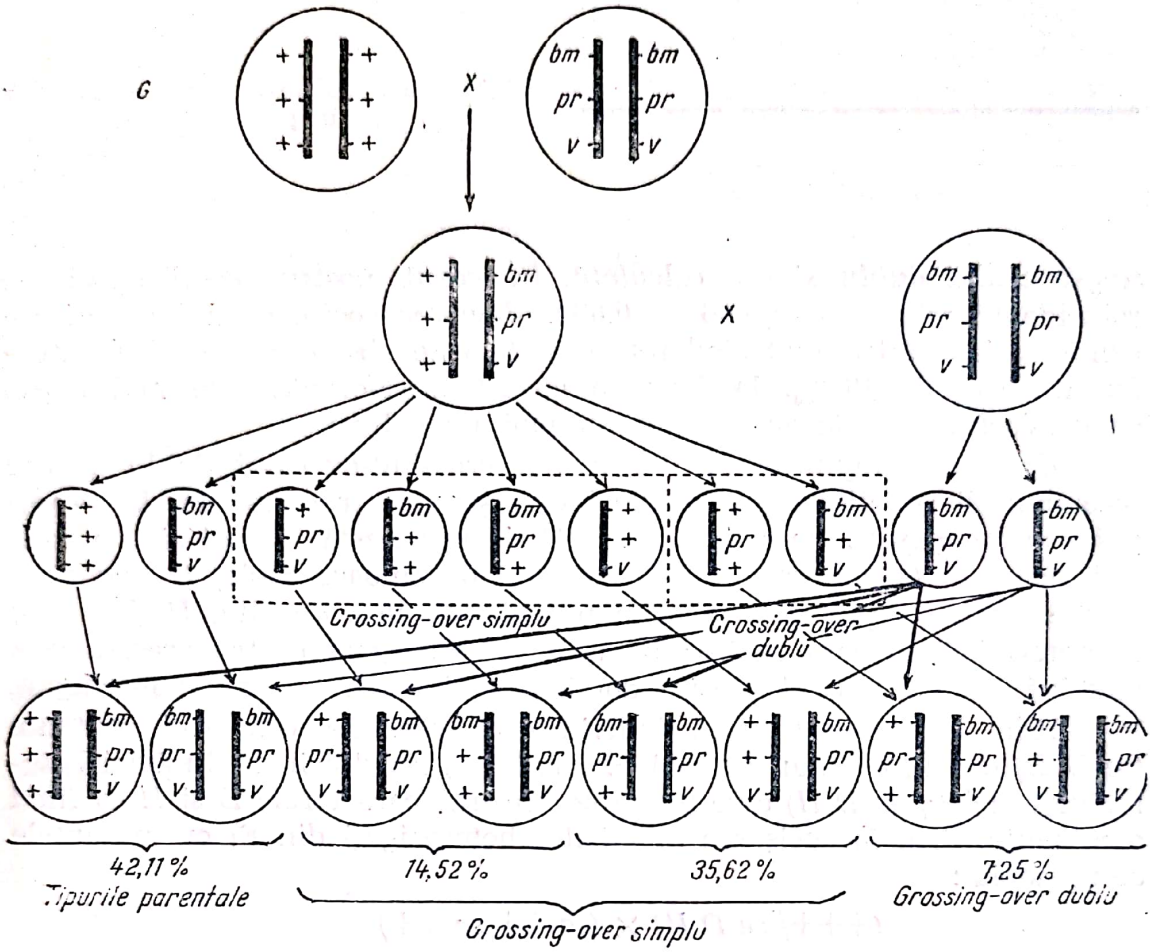



Fig. 54. Crossing-overul simplu și dublu la *Zea mays*.

crossing-overe simple. Numărul total de plante devine 728, adică 65,64%, ceea ce nu mai vine în contradicție cu legile matematicii :

$$50{,}14\% + (2 \times 7{,}75\%) = 65{,}64\%.$$

S-a constatat că atunci *cînd un crossing-over are loc într-un punct al cromozomului probabilitatea ca un alt crossing-over să aibă loc în apropiere este mai redusă, fenomen care a primit numele de interferență.* De pildă, în cazul nostru, la *Zea mays* probabilitatea de manifestare a crossing-overului între *bm* și *pr* este de 22,27%, iar între *pr* și *v* este de 43,37. Probabilitatea de a se produce două crossing-overe între *bm* și *v*, calculată statistic (22,27 × 43,37) și exprimată în procente, este de 9,66%. În realitate, crossing-overul dublu s-a găsit la numai 7,75% din plante, diferența datorîndu-se interferenței.

*Diferența dintre valoarea reală a recombinării genetice și cea calculată statistic se poate exprima cu ajutorul coeficientului de coincidență care se calculează făcînd raportul dintre valoarea experimentală a cros-*

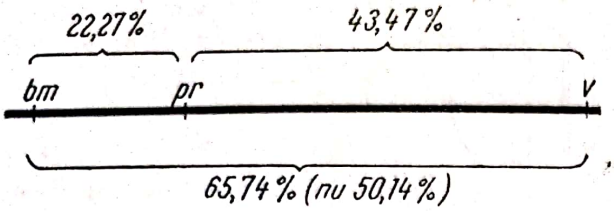



Fig. 55. Plasarea genelor *bm*, *pr* și *v* pe cromozom.

*sing-overului dublu și cea calculată*. În cazul nostru, coeficientul de coincidență este de 7,75/9,66 = 0,802. Valoarea coeficientului de coincidență variază între 1,00 cînd interferența este absolută și 0 cînd interferența este de 100%. Desigur că cu cît interferența este mai mare, cu atît coeficientul de coincidență este mai mic și invers.

Un alt exemplu privind influența crossing-overului dublu asupra recombinării genetice îl constituie încrucișarea a trei mutante la *Drosophila melanogaster*. Pe cromozomul III de la această insectă sînt plasate trei gene : *se* (sepia) care determină ochi de culoare sepia, *D* (dichaete) ce determină corpul gros și aripi îndepărtate una de alta, *H* (hairless) ce determină absența perilor pe corp. Prima genă dintre acestea este recesivă, iar celelalte două sînt dominante și letale în stare homozigotă.

Prin încrucișarea unui individ care prezintă cele trei mutante (*se D H*/*se* ++) cu unul normal (+++/+++) rezultă în $F_1$ indivizi heterozigoți (+++/ *se D H*) care fenotipic prezintă caracterele *D* și *H* ca fiind dominante. Prin încrucișarea indivizilor heterozigoți din $F_1$ cu mutantele de tip sepia :

$$(+++/\ se\ D\ H) \times (se\ ++/se\ ++)$$

rezultă opt tipuri de indivizi diferiți genotipic și fenotipic conform tabelului următor :

| Genotipurile | Fenotipurile | Nr. de indivizi | Prezența sau absența crossing-overului |
|---|---|---|---|
| $\frac{+\ +\ +}{se\ +\ +}$ | + + + (normal) | 633 | fără crossing-over (64,5%) |
| $\frac{se\ D\ H}{se\ +\ +}$ | *se D H* | 657 | |
| $\frac{se\ +\ +}{se\ +\ +}$ | *se* + + | 99 | cu crossing-over simplu între *se* și *D* (10,4%) |
| $\frac{+\ D\ H}{se\ +\ +}$ | + *D H* | 109 | |

| Genotipurile | Fenotipurile | Nr. de indivizi | Prezența sau absența crossing-overului |
|---|---|---|---|
| $\frac{+\ +\ H}{se\ +\ +}$ | + + *H* | 224 | cu crossing-over simplu între *D* și *H* (21,5%) |
| $\frac{se\ D\ +}{se\ +\ +}$ | *se D* + | 206 | |
| $\frac{+\ D\ +}{se\ +\ +}$ | + *D* + | 39 | cu crossing-over dublu între *se* și *D*; *D* și *H* (3,6%) |
| $\frac{se\ +\ H}{se\ +\ +}$ | *se* + *H* | 33 | |

Pe această bază se poate stabili următoarea ordine a celor 3 gene pe cromozomul III :

— distanța între *se* și *D* este de 14,0% = 10,4% + 3,6%;
— distanța între *D* și *H* este de 25,9% = 21,5% + 3,6%;
— distanța între *se* și *H* este de 31,9% = 10,4% + 21,5% și nu de 39,9% (14,0% + 25,9%).

După cum se poate ușor remarca, în cazul unor gene mai îndepărtate, cum sînt *se* și *H*, frecvența recombinărilor genetice se reduce de la 39,9% la 31,9% datorită crossing-overului dublu.

Pe această cale este posibilă plasarea precisă a genelor pe cromozomi, ținînd seama de grupele de linkage și de crossing-overele simple și duble.

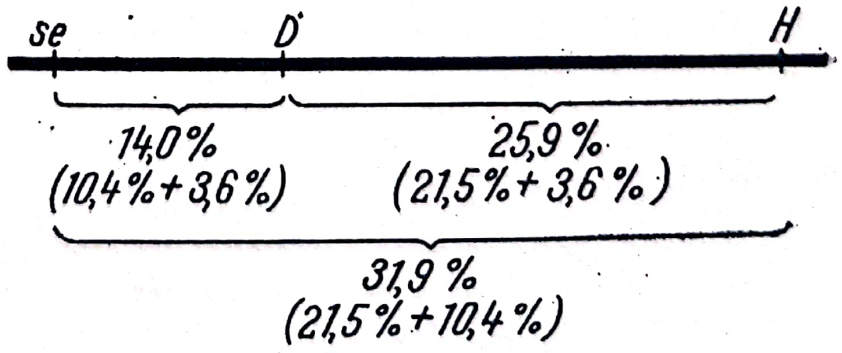



Fig. 56. Plasarea genelor *se*, *D* și *H* pe cromozom.

## HĂRȚI CROMOZOMIALE

Pe baza tezei privind așezarea liniară a genelor pe cromozomi și ținînd seama de grupele de linkage și fenomenul de crossing-over s-au întocmit pentru unele organisme mai bine studiate *hărți cromozomiale* sau *hărți factoriale*. Pe fiecare cromozom sînt reprezentați locii diferitelor gene la distanțe variabile, ținîndu-se seama de procentul de recombinări între genele aceleiași perechi de cromozomi. Prima hartă cromozomială a fost alcătuită la *Drosophila melanogaster* și apoi *la Zea mays* și ulterior s-au întocmit astfel de hărți și la alte specii ca *Antirrhirum majus, Lathyrus odoratus* etc.

*Hărțile cromozomiale constituie o reprezentare grafică condensată a distanțelor relative, exprimate în procente de recombinare, între genele dintr-un grup de linkage, adică cele localizate pe același cromozom.* O contribuție importantă la alcătuirea hărții cromozomiale la *Drosophila melanogaster* a adus C. B. Bridges, un colaborator al lui T. Morgan.

La *Drosophila melanogaster* lungimea genetică a celor 4 cromozomi, măsurată în procente de frecvență a crossing-overelor între gene, este de :

66,0 unități pentru cromozomul I (X)
107,3 unități pentru cromozomul II
106,2 unități pentru cromozomul III
0,2 unități pentru cromozomul IV

Aceste lungimi genetice corespund foarte bine cu lungimea reală a cromozomilor la *Drosophila,* studiați citologic.

Crossing-overul poate varia numai între 0 și 50% întrucît la valori peste 50% nu se mai produce o recombinare, ci segregare independentă. Atunci întrebarea care se ridică este următoarea : cum este posibil ca între gene între care procentul de recombinare nu depășește 50% totuși pe hartă să apară distanțe mai mari ? Acest fenomen se datorește faptului că din cauza crossing-overelor duble, distanțele mari trebuie măsurate prin însumarea valorilor de recombinare dintre genele intermediare. Ca urmare, aceste valori depășesc adesea 50%. De exemplu pe cromozomul II sînt plasate genele : ochi în formă de stea *(S)* la 1,3 distanță și aripi pătate *(sp)* la 107,0 distanță, între ele fiind deci o distanță de 105,7 unități de recombinare. Cînd indivizii care prezintă ambele mutații se încrucișează cu indivizi normali, se obțin mai puțin de 50% recombinări (exact 48,7%), aceasta datorîndu-se crossing-overelor duble care reduc crossing-overele simple. Dacă însă între cele două gene se adună distanțele genelor intermediare, atunci se obține valoarea 105,7 care constituie valoarea reală a distanței dintre cele două gene.

Deci distanța însemnată pe harta cromozomială nu corespunde cu valoarea procentului de recombinări măsurată direct și ca urmare mări-

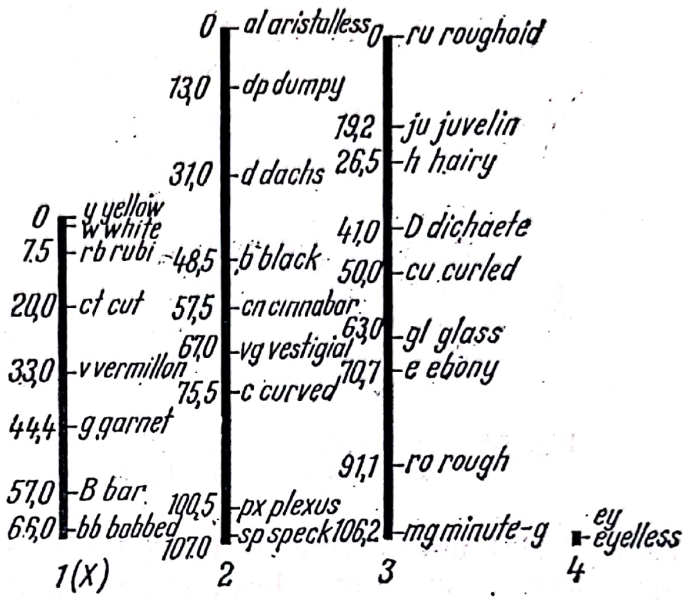



Fig. 57. Harta cromozomială de la *Drosophila melanogaster*, pe care sînt însemnate numai cîteva gene.

mea crossing-overelor dintre două gene nu poate fi citită direct pe hartă decît în cazul genelor apropiate, între care nu poate avea loc crossing-over dublu.

Pe lîngă hărțile genetice s-au elaborat și hărți citologice în care genele sînt localizate citologic pe cromozomi. Alcătuirea hărților citologice a devenit posibilă pe baza dezvoltării cercetărilor privind celula și cromozomii, dar mai ales datorită descoperirii în nucleii glandelor salivare de la larvele de *Drosophila melanogaster* a unor cromozomi uriași vizibili în interfază și ușor de studiat din cauza dimensiunilor lor considerabile.

Încă în 1881 E. G. Balbiani a semnalat existența unor nuclei uriași în celulele glandelor salivare de la larvele unor *Chironomidae*. Acești nuclei uriași au fost apoi descoperiți la numeroase diptere, printre care și la *Drosophila melanogaster*. Semnificația acestor descoperiri n-a fost apreciată pînă în anul 1933, cînd mai mulți cercetători, ocupîndu-se de particularitățile structurale ale cromozomilor din acești nuclei, au stabilit anumite corelații între structura lor și modul de plasare a genelor pe cromozomi.

Cercetările lui T. S. Painter (1933 și 1934) efectuate la *Drosophila melanogaster* au arătat că în nucleii uriași ai glandelor salivare se află un filament cilindric, răsucit, alcătuit din 5 brațe lungi și unul foarte scurt, toate unite într-un punct central, denumit *cromocentru*. Din cauză că cromozomii sînt prinși unul de altul nu la capete, ci în regiunea centromerului, devine clar de ce numărul de brațe la cromozomii uriași este mai mare decît numărul de cromozomi. Cele 5 brațe lungi corespund la 3 perechi de cromozomi alungiți, iar cel de-al șaselea braț scurt corespunde perechii a IV-a de cromozomi. Cromozomii pe-

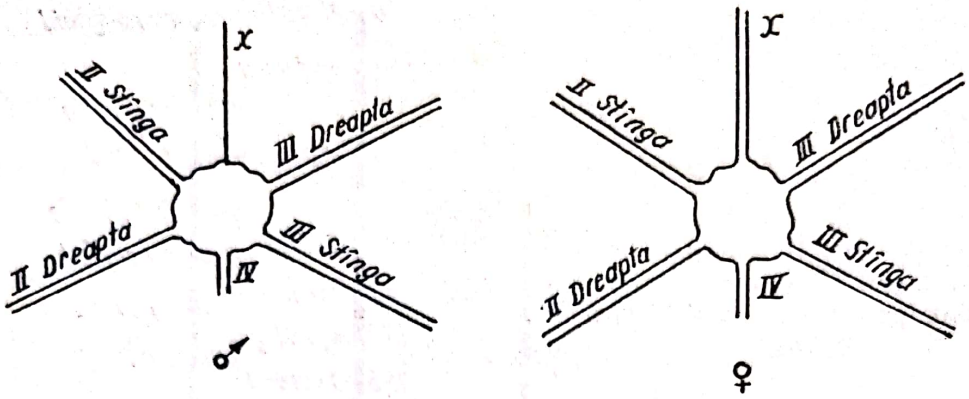



Fig. 58. Reprezentarea schematică a cromozomilor uriași din glandele salivare de la *Drosophila melanogaster.*

rechii I sînt uniți strîns pe toată lungimea, în *sinapsă,* astfel că ei nu apar decît ca un singur braț. Lungimea acestor brațe este următoarea :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Perechea | I | (X) de cromozomi | 220 μ |
| Perechea a | II-a | de cromozomi | 215 și 245 μ |
| Perechea a | III-a | de cromozomi | 210 și 275 μ |
| Perechea a | IV-a | de cromozomi | 15 μ |
| | | Total : | 1 180 μ |

Lungimea totală a acestor cromozomi este deci de 1 180 μ, ei fiind de 157 ori mai lungi decît cromozomii normali, a căror lungime este de numai 7,5 μ.

Celulele glandelor salivare ale larvelor de *Drosophila melanogaster* nu se divid niciodată, iar la începutul metafazei ele degenerează. În timp ce cromozomii normali sînt formați din două cromatide paralele, în cromozomii uriași numărul cromatidelor paralele ale fiecărui cromozom este foarte mare. Aceasta se datorește unei clivări succesive a cromatidelor, fără ca această clivare să fie urmată de separarea cromatidelor. Fenomenul se numește *politenie,* iar cromozomii se numesc politeni. După faza de pupă, cromozomii din celulele glandelor salivare se clivează succesiv de 11 ori, fapt care corespunde la un grad de poliploidie de $2^{12} = 4\,096\ n$. La *Chironomus* clivarea se efectuează de 14 ori succesiv, astfel că gradul de poliploidie al celulelor respective este de $2^{15} = 32\,768\ n$. Desigur că determinarea gradului de poliploidie al acestor celule nu era posibilă prin metode citologice, ci s-a făcut prin metode biochimice, determinîndu-se cantitatea de acid dezoxiribonucleic (A D N) din celule.

Colorarea cromozomilor uriași prin metoda carmin-acetică sau Feulgen a arătat că ei sînt formați din mai mult de 5 000 de benzi transversale, fiecare fiind alcătuită din 16 puncte.

Pentru explicația existenței acestor benzi transversale există două teorii mai importante. Prima aparține lui T. Caspersson (1936)

și ea explică existența benzilor transversale ca fiind datorată alternanței între zonele bogate și cele sărace în acid dezoxiribonucleic. O altă teorie este cea a lui H. Ris și A. Grouse (1945), care susțin că de fapt benzile transversale sînt o iluzie optică datorită răsucirii cromatidelor în interiorul cromozomilor uriași. Pe porțiunile în care ele au o poziție paralelă cu cromozomul apar benzi luminoase, iar pe porțiunile unde ele sînt răsucite și au o poziție aproape perpendiculară pe cromozom apar benzi întunecate.

Distribuția acestor benzi de-a lungul cromozomilor este constantă, astfel încît ele au putut fi identificate și numerotate. Socotind că lungimea totală a cromozomilor este de 1 180 μ, ea a fost împărțită în 100 diviziuni, după cum urmează :

Perechea I de cromozomi : 0 — 20 diviziuni
Perechea a II-a de cromozomi : 20 — 60 diviziuni
Perechea a III-a de cromozomi : 60 — 100 diviziuni

Cea de-a IV-a pereche de cromozomi nu figurează în această împărțire, datorită lungimii sale extrem de mici. Fiecare diviziune cuprinde 6 subdiviziuni, notate astfel : A, B, C, D, E, F, iar în fiecare subdiviziune există un număr variabil de benzi transversale, care au fost numerotate. S-a reușit astfel să se identifice și să se numeroteze circa 5 000 de benzi de-a lungul cromozomilor uriași. Pe această bază C. B. Bridges a revizuit harta genetică a *Drosophilei melanogaster,* stabilind o corespondență între locii genelor și striațiile transversale din cromozomii uriași ai glandelor salivare. Distanțele pe harta genetică și cea citologică, între gene, nu corespund întotdeauna. Discrepanța este mai mare în regiunea vecină centromerului unde o unitate de recombinare corespunde la o distanță citologică mult mai mare decît în alte regiuni ale cromozomului.

Cea mai puternică discrepanță se observă la *Drosophila melanogaster* între harta genetică și cea citologică a cromozomilor sexuali. Astfel la cromozomul X în timp ce 1/3 din lungimea sa conține o singură genă (peri atîrnați, *bb*), pe celelalte *2/3* sînt plasate restul de mai mult de 100 de gene. Gena *bb* este singura genă de pe cromozomul X care are o alelă pe cromozomul Y. Cromozomul Y deși este mai mare decît cel X nu conține decît gena *(bb)* și factori care determină fertilitatea masculilor. Ca urmare s-a tras concluzia că 1/3 din cromozomul X și cromozomul Y în întregime este format dintr-un material diferit decît restul cromozomilor.

Pe cale citologică s-a descoperit că unii cromozomi sau fragmente ale lor se colorează în interfază sau încep să se coloreze în profază înaintea celorlalți. Acești cromozomi sau fragmente de cromozomi sînt alcătuiți din *heterocromatină,* în timp ce restul cromozomilor ce se colorează normal sînt alcătuiți din *eucromatină.*

La *Drosophila melanogaster* cercetările au arătat că cromozomul Y, 1/3 din cromozomul X și mici porțiuni din apropierea centromerului la cromozomul II și III sînt formate din heterocromatină. Aceștia sînt

tocmai cromozomii sau porțiunile de cromozomi care au mai puține gene decît celelalte. În ce privește cromozomii uriași se consideră că ei au astfel de dimensiuni datorită măririi considerabile a părții eucromatice, în timp ce partea heterocromatică rămîne relativ scurtă și în ea nu se poate observa clar alternanța benzilor luminoase și a celor întunecate. Aceste părți heterocromatice ale diferiților cromozomi au tendința de a se lipi una de alta și de a forma un cromocentru de care sînt prinși radiar cromozomii eucromatici.

Descoperirea cromozomilor uriași a dat astfel posibilitatea să se găsească un suport material citologic teoriei localizării genelor în cromozomi și să permită alcătuirea unor hărți cromozomiale atît pe bază de cercetări genetice cît și citologice.

## ABERAȚII CROMOZOMIALE

Cercetările lui T. Morgan au pus în evidență mai întîi la *Drosophila melanogaster* și apoi la alte obiecte de cercetare existența unei corelații între apariția unor mutante și anumite aberații cromozomiale, care afectează mărimea și chiar numărul cromozomilor. Ulterior s-a constatat experimental că sub influența unei game variate de factori mutageni este posibilă inducerea experimentală a unor *aberații cromozomiale* sau *remanieri cromozomiale*, fapt care are importante consecințe genetice asupra organismelor respective. Astfel datorită aberațiilor cromozomiale este posibilă pierderea unor gene, schimbarea ordinii unor loci pe cromozomi, transferul de gene de la un cromozom la altul etc.

Sub influența factorilor mutageni se produc printre altele rupturi ale cromozomilor în procesul de diviziune celulară mitotică și meiotică, astfel că au loc reorganizări ale aparatului cromozomial. În cazul cînd fragmentele de cromozomi se lipesc la loc în același mod, fenomenul se cheamă *restituție* și el nu este urmat de modificări genetice. Dacă însă fragmentele de cromozomi se pierd sau se lipesc într-o altă poziție pe cromozomul de la care provin sau la un alt cromozom apar mai multe tipuri de aberații cromozomiale ce pot fi identificate citologic și genetic.

*Deleția* sau *deficiența* implică ruperea unui cromozom și pierderea fragmentului lipsit de centromer. În cazul unei singure rupturi a cromozomului rezultă două segmente, din care unul este prevăzut cu centromer și poate migra normal în cursul diviziunii celulare, în timp ce celălalt segment lipsit de centromer se autodizolvă în citoplasmă, producîndu-se astfel o *deleție terminală*. În cazul a două rupturi ale aceluiași braț al cromozomului este posibilă pierderea unui segment cromozomial neterminal, apărînd astfel o *deleție intercalară*. Acest tip de deleție implică bineînțeles faptul că segmentul terminal al cromozomului se realipește de segmentul prevăzut cu centromer.

Scanned with OKEN Scanner

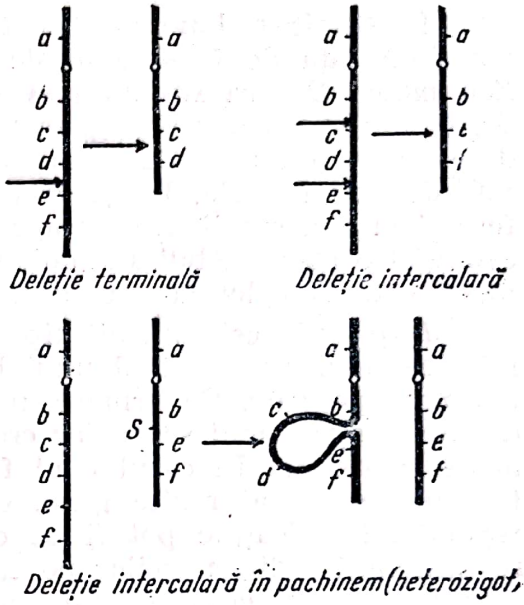



Fig. 59. Fenomenul de deleție cromozomială.

*Fenomenul de deleție poate fi detectat genetic și citologic.* Astfel s-a constatat că în cazul cînd pe fragmentul de cromozom pierdut sînt prezente anumite gene, se produce o mutație. La șoareci, de pildă, este cunoscută o mutantă recesivă de tip „waltzing" care se caracterizează prin aceea că animalele se mișcă continuu, simulînd valsul. Prin încrucișarea unei femele „waltzing" cu un mascul normal ar fi trebuit să rezulte exclusiv descendenți normali. Au apărut însă o parte dintre descendenți de tip „waltzing", fapt care indică pierderea unui fragment cromozomial la mascul ce cauzează mutația respectivă. Într-adevăr studiul citologic al animalelor a arătat pierderea unui fragment cromozomial.

Din punct de vedere citologic, delețiile pot fi detectate în mitoză, în profaza meiozei și prin studiul cromozomilor uriași din glandele salivare de la unele insecte. Delețiile terminale și cele intercalare determină apariția unor cromozomi mai scurți ce pot fi identificați în mitoză. Delețiile pot fi relativ ușor recunoscute în profaza meiozei, și anume în pachinem, din modul cum se împerechează cromozomul deficient cu cel normal. Trebuie adăugat că delețiile în stare homozigotă sînt de obicei letale și că ele în general se pot păstra în stare heterozigotă. În pachinem cromozomul deficient și cu cel normal formează niște figuri speciale, cum sînt, de pildă, buclele, datorită faptului că o parte din gene sînt lipsite de alele corespunzătoare.

Localizarea precisă a delețiilor se poate realiza, de asemenea, prin studiul comparativ al benzilor caracteristice din cromozomii uriași al glandelor salivare de la tipul normal și de la mutanta respectivă. Desigur că această metodă nu poate fi folosită decît la speciile de insecte din genurile *Drosophila, Chironomus* etc., care posedă astfel de cromozomi uriași.

În sfîrșit trebuie arătat că diferite specii manifestă o rezistență variabilă față de fenomenul de deleție. Astfel unele plante, cum sînt *Zea mays, Datura stramonium* și *Triticum aestivum,* pot rezista pierderii unui cromozom întreg, în timp ce la *Drosophila melanogaster* pierderea unui fragment de cromozom ce conține mai mult de 50 de benzi este de obicei letală. În general la organismele mai evoluate, la mamifere și la om, specii la care aparatul cromozomial a dobîndit în cursul evoluției o mare stabilitate, deleția unui fragment cromozomial ceva mai mare este sau letală sau determină apariția unor sindroame grave.

*Duplicația* este un alt tip de aberație cromozomială, care implică ruperea unui fragment al unui braț cromozomial și alipirea sa la cromozomul pereche. Ca urmare, unul dintre cromozomi este afectat de o deleție și apare mai scurt, iar cromozomul pereche afectat de duplicație apare mai lung. În cazul cînd fragmentul cromozomial transferat conține una sau mai multe gene, cromozomul cu duplicație conține gene repetate. Duplicațiile pot fi de două tipuri : *duplicații în tandem* cînd se păstrează ordinea locilor pe cromozom și *duplicații în tandem invers* cînd fragmentul cromozomial transferat suferă o rotație cu 180° astfel că genele repetate au o ordine inversă.

Fenomenul de duplicație poate fi identificat genetic sau prin studiul citologic al mitozei, meiozei sau cromozomilor uriași din glandele salivare. Un exemplu de duplicație îl constituie mutanta Bar la *Drosophila melanogaster,* la care există o duplicație ce include șapte benzi din regiunea 16 A a cromozomului X din glandele salivare. La tipul sălbatic masculii prezintă această regiune o singură dată, la mutanta *Bar* masculii au această regiune reprezentată de două ori, iar la masculii dublu *Bar* reprezentată de trei ori. În ce privește modul de apariție al mutantei *Bar* s-a dovedit experimental că ea apare datorită unui fenomen de crossing-over inegal, prin care un fragment cromozomial este transferat pe cromozomul pereche. De aceea tipul *Bar* nu este o mutație

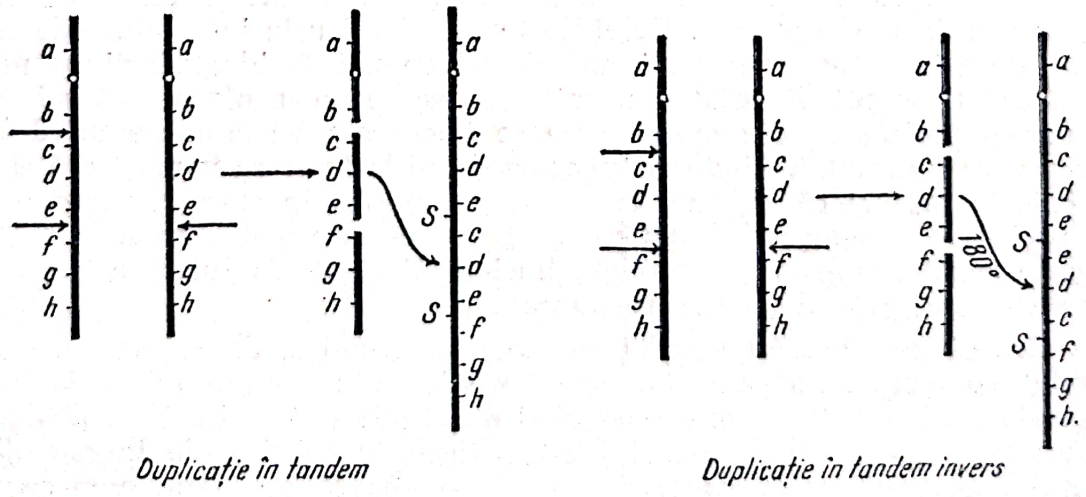



Fig. 60. Fenomenul de duplicație cromozomială

propriu-zisă, ci o consecință a unui crossing-over inegal prin care apare fenomenul de duplicație.

Duplicațiile sînt mai frecvente ca delețiile și spre deosebire de acestea din urmă nu au efect letal.

*Inversia* este fenomenul prin care un cromozom se rupe și fragmentul respectiv suferă o rotație de 180°, realipindu-se apoi cromozomului de care s-a rupt. În cazul unei singure rupturi a cromozomului, segmentul terminal fără centromer după ce se rotește cu 180° se realipește la cromozomul respectiv, acest tip fiind denumit *inversie paracentrică sau terminală*. În cazul a două rupturi ale cromozomului rezultă trei segmente, din care cel interior prevăzut cu centromer suferă o rotație de 180° după care se realipește celor două segmente terminale. Tipul acesta este denumit *inversie pericentrică*.

Datorită fenomenului de inversie se modifică ordinea locilor pe cromozom, fenomen care are consecințe genetice mai ales datorită așa-numitului *efect de poziție*. Pentru ca genele să funcționeze normal ele trebuie să aibă o anumită poziție pe cromozom și anumite gene în vecinătate. Schimbarea poziției atrage modificarea funcționării genelor și apariția procesului mutațional.

Fenomenul de inversie poate fi greu detectat citologic în mitoză din cauză că nu se modifică dimensiunea cromozomilor, ci numai uneori poziția centromerului. În schimb el poate fi mai ușor identificat în meioză, deoarece modificarea ordinii locilor pe unul din cromozomi datorită inversiei face ca împerecherea sa cu cromozomul omolog să nu se realizeze normal. Ca urmare apare în pachinem așa-numita *spiră de inversie* datorită căreia genele alele au posibilitatea asocierii. De asemenea, inversiile pot fi identificate prin studiul comparativ al poziției benzilor în cromozomii uriași din glandele salivare ale unor insecte.

*Translocația* este fenomenul prin care se realizează transferul de fragmente cromozomiale între cromozomi neomologi. În cazul unei sin-

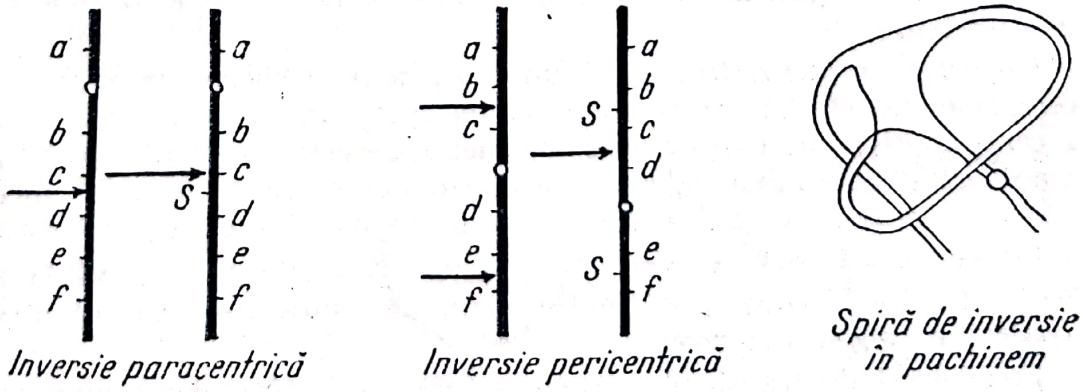



Fig. 61. Inversia cromozomială.

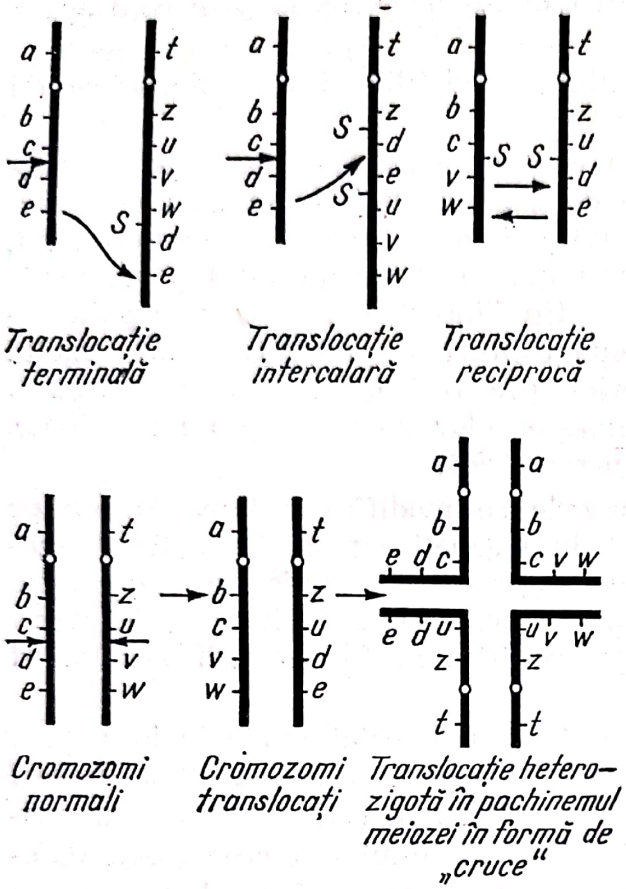



Fig. 62. Translocația cromozomială.

gure rupturi a unui cromozom, fragmentul cromozomial lipsit de centromer poate fi transferat la capătul unui cromozom neomolog, realizîndu-se o *translocație terminală*. Dacă fragmentul cromozomial este transferat nu la capătul, ci în interiorul unui cromozom neomolog, se produce o *translocație intercalară*. În sfîrșit, în cazul cînd doi cromozomi neomologi suferă fiecare cîte o ruptură și între ei se realizează un transfer reciproc de fragmente cromozomiale, fenomenul se cheamă *translocație reciprocă*.

Uneori se produce transferul unui segment cromozomial prevăzut cu centromer astfel că în urma translocației apare un cromozom prevăzut cu 2 centromeri și unul lipsit de centromer care este eliminat. Acest tip de translocație determină adesea formarea de gameți neviabili, încît organsimele respective sînt eliminate prin imposibilitatea reproducerii.

De asemenea, trebuie menționat că uneori numărul de rupturi și respectiv de translocații este foarte mare, mai ales în cazul folosirii unor agenți mutageni puternici.

Fenomenul de translocație are consecințe genetice importante datorită reorganizării aparatului cromozomial și modificării ordinii locilor

pe cromozomi. Citologic, fenomenul poate fi identificat în mitoză datorită modificării dimensiunilor cromozomilor afectați. În cazul translocației reciproce cînd se realizează un transfer de fragmente cromozomiale aproximativ identice ca mărime, fenomenul de translocație nu mai poate fi observat în mitoză. În schimb în meioză datorită schimbului de gene între cromozomi neomologi, ei devin parțial omologi, cele 2 perechi de cromozomi formează niște figuri caracteristice în *cruce*. Desigur că translocațiile pot fi identificate și prin studiul dispoziției benzilor în cromozomii uriași ai glandelor salivare de la unele insecte, care dă indicații foarte precise privind mărimea segmentelor cromozomiale translocate.

În sfîrșit trebuie menționat că în cazul cînd între 2 cromozomi neomologi se realizează o translocație reciprocă a unor fragmente terminale foarte mici de cromozomi, cele două perechi de cromozomi formează în meioză un inel datorită sinapsei capetelor cromozomilor neomologi. Cei patru cromozomi ai inelului respectiv se pot dispune în două poziții, și anume: *alternă* și *adiacentă*. În cazul tipului altern, în anafaza meiozei cromozomii migrează la poli în mod diferit, astfel că la fiecare pol migrează cîte un cromozom normal și cîte unul translocat, în timp ce în cazul tipului adiacent, ambii cromozomi ce migrează la un pol sînt normali și ambii cromozomi ce migrează la celălalt sînt translocați.

Datorită unor translocații complexe care afectează mai mult decît 2 cromozomi neomologi se pot forma în meioză inele ce cuprind 6 cromozomi sau chiar mai mulți. La *Rhoeo discholor*, plantă cu $2n = 12$ din cauza unei translocații complexe toți cei 12 cromozomi formează un inel, iar la *Rhoeo californica* ($2n = 10$) s-a observat existența unor forme rezultate din translocații care formează inele cu 4—6—8—10 cromozomi. Fenomenul a fost remarcat și la unele specii de *Oenothera*, cum este, de pildă, *O. lamarckiana* ($2n = 14$) care prezintă inele formate din 12 cromozomi.

Aberațiile cromozomiale constituie deci un mijloc important de reorganizare a materialului cromozomial și respectiv a aparatului genetic. Sub influența unor factori mutageni naturali sau artificiali este posibilă apariția diferitelor tipuri de aberații cromozomiale, fenomen care

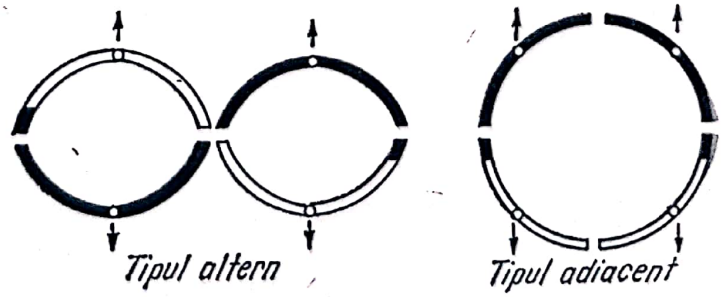



Fig. 63. Cele 2 tipuri de translocație reciprocă în cazul a 2 perechi de cromozomi.

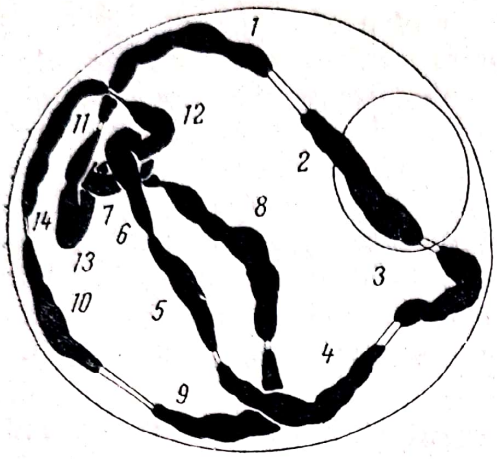



Fig. 64. Inel format din 14 cromozomi în diachineză la *Oenothera muricata* (după Darlington, 1937).

prezintă deosebită importanţă în procesul de inducere a mutaţiilor adevărate sau a celor rezultate prin reorganizarea materialului genetic. Faptul că experimental s-a dovedit existenţa naturală a unor aberaţii cromozomiale la diferite specii de plante şi animale, arată că aceasta a fost una dintre căile prin care s-a realizat evoluţia în natură.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL VI

# EREDITATEA SEXELOR

## SCURT ISTORIC

Autoreproducerea materiei vii se realizează în mare măsură pe cale sexuată la numeroase specii de plante și animale. Relativ recent s-au pus în evidență fenomene de sexualitate la bacterii și virusuri, ca, de pildă, conjugarea, transducția și recombinarea genetică. Ținînd seama de răspîndirea extraordinară a reproducerii sexuate și de importanța biologică a fenomenului, geneticienii caută de multă vreme răspunsul la întrebarea : care este determinismul ereditar al sexelor, care sînt factorii interni și externi care conduc la realizarea unui anumit raport între sexe în cadrul fiecărei specii ?

Încă de multă vreme s-au elaborat unele teorii fanteziste privind determinismul ereditar al sexelor. Astfel, în antichitate, la evrei, exista credința că sexele sînt determinate de „sămînța" din testicule : din cel drept producîndu-se masculi, iar din cel stîng femele. Ca urmare făceau recomandări de îndepărtare a unuia dintre testicule în vederea apariției la descendenți numai a unui sex. O altă teorie de acest gen considera că sexul descendenței este determinat de „puterea" sexului părinților și în sfîrșit o altă teorie la fel de fantezistă considera că sexul este determinat de direcția vîntului — de la nord sau de la sud — în momentul copulării. Numărul teoriilor de acest fel care au încercat să dea o explicație sexelor depășește 500. Dezvoltarea cercetărilor de citologie la sfîrșitul secolului al XIX-lea, dar mai ales în secolul al XX-lea a permis studierea mecanismului celular al determinării genetice a sexelor. Primele cercetări în această direcție au fost efectuate de citologul german H. Henking, care a descoperit în 1891 că gameții de la insectele din genul *Pirrochoris* sînt heterogeni : jumătate posedă niște corpusculi X,

iar jumătate sînt lipsiți de acești corpusculi. El leagă acest fenomen de diferențierea genetică a sexelor.

C. E. McClung în 1902 descoperă faptul că la lăcustă *(Locusta viridissima)* femelele au un cromozom „accesoriu" în plus comparativ cu masculii. Ulterior, el a arătat că nu este de fapt vorba de un cromozom accesoriu, ci de o diferențiere numerică a cromozomilor legată de determinismul sexual: masculii avînd 2 $n = 31$ cromozomi, iar femelele 2 $n = 32$. Aceasta înseamnă că femelele au gameți de un singur tip cu $n = 16$, iar masculii cu 2 tipuri de gameți cu $n = 15$ și 16.

Un fenomen similar a fost remarcat de E. B. Wilson la insectele din specia *Protenor bleifragei* la care femelele au 2 $n = 14$ cromozomi, iar masculii 2 $n = 13$ și la specia *Anasa tristis* la care femelele au 2 $n = 22$ și masculii 2 $n = 21$. Mai tîrziu el descoperă la *Lygaeus turcicus* că ambele sexe au 2 $n = 14$ cromozomi, însă masculii au între aceștia o pereche de cromozomi diferiți ca dimensiuni: unul mare (X) și altul mic (Y), în timp ce femela are în perechea respectivă doi cromozomi mari identici (XX).

Pe baza acestor prime cercetări citogenetice s-au descoperit ulterior și alte tipuri de determinare genetică a sexului.

## DETERMINISMUL GENETIC AL SEXELOR

Tipul *Drosophila* este unul dintre cele mai răspîndite tipuri de determinare cromozomială a sexelor, din el făcînd parte unele plante, unele insecte, mamiferele, omul etc. Acest tip de determinism al sexelor a fost descoperit la *Drosophila melanogaster* la care atît masculul cît și femela au 2 $n = 8$ cromozomi. Dintre aceștia, doi sînt cromozomi sexuali sau *heterozomi* identici la femelă (XX) și diferiți la mascul (XY), iar restul de 6 cromozomi nesexuali poartă denumirea de *autozomi*. Femela este *homogametică* în sensul că în fiecare ovul există trei autozomi și un cromozom sexual X, în timp ce masculul este *heterogametic* avînd 50% din spermatozoizi cu trei autozomi plus un cromozom sexual X și 50% din spermatozoizi cu trei autozomi și un cromozom sexual Y. Prin fecundarea unui ovul ce conține cromozomul X cu un spermatozoid ce conține cromozomul X rezultă o femelă (XX), iar prin fecundarea unui ovul (X) cu un spermatozoid ce are cromozomul Y rezultă un mascul (XY). Probabilitatea apariției celor două sexe este egală, și anume de 50% pentru fiecare sex, iar raportul între sexe este de 1 : 1.

*Tipul Protenor* a fost descoperit la insecta *Protenor bleifragei* și este caracteristic pentru o seamă de specii de insecte (hemiptere, ortoptere, heteroptere etc.). La *P. bleifragei* femelele au 2 $n = 14$ cromozomi (12 autozomi + X X) și sînt homogametice, iar masculii au 2 $n = 13$ cromozomi (12 autozomi + X) și sînt heterogametici: jumătate dintre gameți au $n = 7$ cromozomi (6 autozomi + X) și jumătate au $n = 6$ cro-

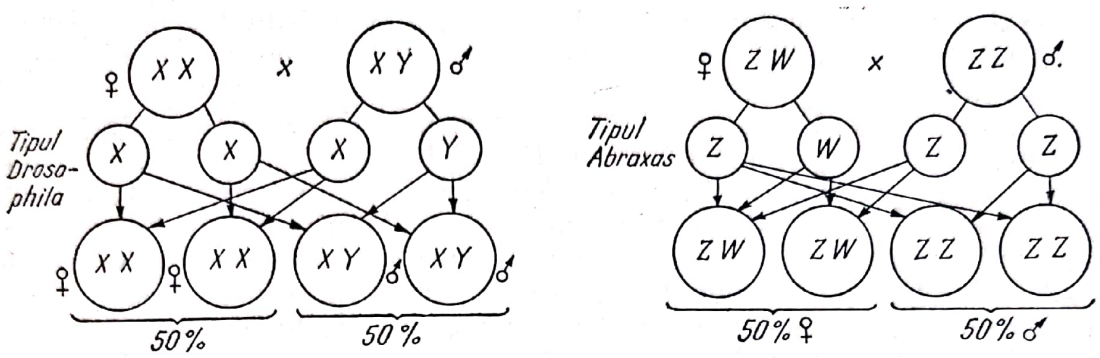



Fig. 65. Tipurile *Drosophila* și *pasăre* de determinare genetică a sexelor.

mozomi (6 autozomi + O). Aceasta înseamnă că femelele au 2 cromozomi ai sexului, iar masculii au numai unul. Prin fecundarea ovulelor (X) cu spermatozoizi diferiți (X sau O) rezultă 50% femele (X X) și 50% masculi (X O). Acest tip de determinare genetică a sexului este caracteristic și pentru alte specii : *Locusta viridissima* la care femelele au 2 $n$ = 32 și masculii 2 $n$ = 31, viermele nematod *Angiostomum nigrovenosum*, la care femelele au 2 $n$ = 24 și masculii 2 $n$ = 23, la *Phyloxera vastatrix*, la care femelele au 2 $n$ = 6 și masculii 2 $n$ = 5 etc.

*Tipul pasăre* prezintă un determinism genetic al sexelor opus celui de la *Drosophila*, în sensul că masculii sînt homogametici, iar femelele heterogametice. Acest tip de ereditate a sexului a fost descoperit la fluturele *Abraxas grossulariata* — la care masculii au 2 cromozomi sexuali identici (X X sau Z Z), iar femelele au 2 cromozomi sexuali diferiți (X Y sau Z W). Acest tip de determinism genetic al sexelor este caracteristic și pentru viermele de mătase (*Bombyx mori*, 2 $n$ = 56), pentru păsări, reptile și o parte din amfibieni.

*Tipul fluture* prezintă, de asemenea, masculi homogametici și femele heterogametice, dar care au numai un cromozom sexual. În cazul acestui

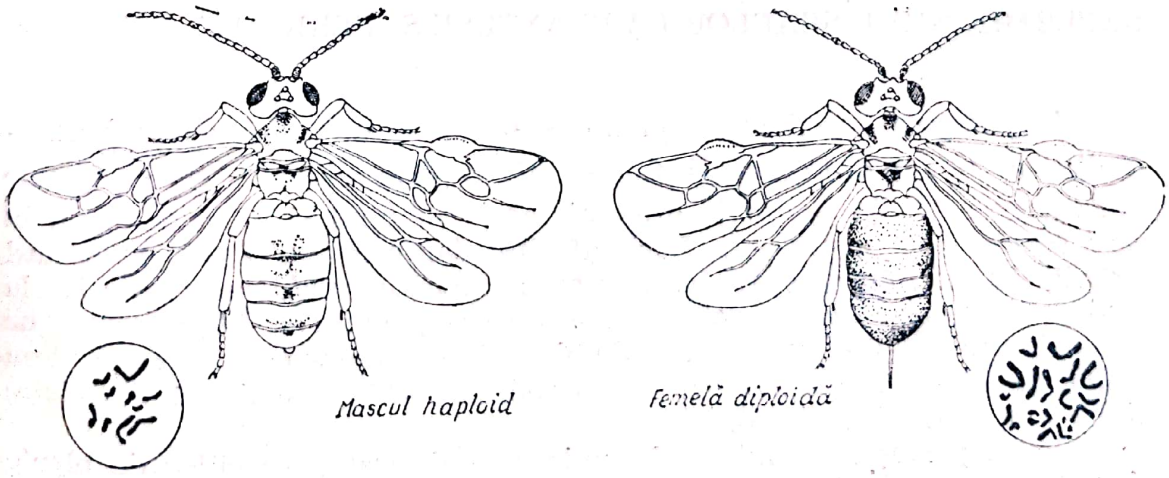



Fig. 66. Femelă diploidă (2 $n$ = 20) și mascul haploid ($n$ = 10) de *Habrobracon juglandis* (după G r o s c h).

tip de determinism cromozomial al sexelor, masculii au 2 cromozomi sexuali (X X sau Z Z), iar femelele numai un cromozom sexual (X O sau Z O).

*Tipul de haploidie masculă* este caracteristic pentru unele insecte, cum este, de pildă, albina *(Apis mellifera)* la care femelele sînt diploide (2 $n$ = 32) provenind din ovule fecundate, iar masculii sînt haploizi ( $n$ = 16), provenind din ovule nefecundate. Printr-un act reflex matca are posibilitatea să depună în celulele fagurelui ouă nefecundate sau fecundate, în funcție de închiderea sau respectiv deschiderea canalului de la spermatecă în care este păstrată rezerva de spermatozoizi.

Toate aceste tipuri de determinism cromozomial al sexelor pot fi sintetizate astfel :

| Tipuri de determinare cromozomială a sexelor | Celulele somatice (2 $n$) | | Celulele sexuale ($n$) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ♀ | ♂ | ♀ | | ♂ | |
| Tipul *Drosophila* | X X | X Y | X | X | X | Y |
| Tipul *Protenor* | X X | X O | X | X | X | O |
| Tipul *pasăre* | X Y (Z W) | X X (Z Z) | X (Z) | Y (W) | X (Z) | X (Z) |
| Tipul *fluture* | X O (Z O) | X X (Z Z) | X (Z) | O | X (Z) | X (Z) |
| Tipul de haploidie masculă | 2 $n$ | $n$ | $n$ | $n$ | $n$ | $n$ |

## DETERMINISMUL SEXELOR LA PLANTELE SUPERIOARE

Majoritatea speciilor de plante superioare sînt *bisexuate :* hermafrodite (♀♂) avînd în aceeași floare atît organe mascule cît și femele sau *monoice* (de la cuvintele grecești *mono* = unul și *oikos* = casă) la care sexele sînt separate în flori diferite, dar care se găsesc pe același individ. Numai puține specii de plante sînt *monosexuate* sau *dioice* (de la cuvintele grecești *dis* = doi și *oikos* = casă) avînd sexele separate pe indivizi diferiți. De pildă, după datele lui D. Lewis (1942) în flora Angliei se găsesc : 92,0% specii hermafrodite, 5,4% monoice, 2,0% dioice și 0,6% tipuri intermediare.

În ce privește modul de fecundare, majoritatea speciilor de plante sînt *alogame,* polenizîndu-se încrucișat și numai puține specii se autopolenizează fiind *autogame.* Pentru prevenirea autopolenizării, care duce

la consangvinizare, la plante, există diferite mecanisme morfo-fiziologice, cum sînt : *heterostilia, protandria, protoginia* etc., sau genetice, cum este, de pildă, *autoincompatiblitatea genetică* provocată de prezenţa unor gene polialele notate cu $S_1$, $S_2$, $S_3$, $S_4$.....$S_n$. Numărul acestor alele este variabil de la o specie la alta. Astfel la *Nicotiana sanderae* există 15 gene alele din această serie, la *Oenothera organensis* există 45 gene alele etc. Pentru ca fecundarea să se poată produce este necesar ca polenul să nu aibă aceleaşi alele cu pistilul. Acest fenomen prezintă importanţă practică de pildă la pomi fructiferi, care se înmulţesc vegetativ prin altoire şi formează deci *clone*. Pentru a obţine fructe, este necesară combinarea a două sau mai multe varietăţi într-o livadă, deoarece plantarea unei singure varietăţi face imposibilă polenizarea, la pomi manifestîndu-se fenomenul *autoincompatibilităţii genetice*.

Evident că problema determinismului genetic al sexelor se pune numai pentru speciile monosexuate dioice la care există indivizi masculi şi femeli. Cercetările lui C. Correns la *Bryonia dioica* au arătat că la această plantă există un determinism cromozomial al sexelor similar cu cel de la *Drosophila*. Prin încrucişarea speciei *Bryonia dioica*, la care există plante femele (X X) şi mascule (X Y), cu plante hermafrodite din specia *B. alba* (X X) s-au obţinut următoarele rezultate :

a) *B. dioica* (X X) ♀ × *B. alba* (X X) ♂ în $F_1$ au rezultat aproape exclusiv femele (X X) (587 femele şi 2 masculi) ;

b) *B. alba* (X X) ♀ × *B. dioica* (X Y) ♂ în $F_1$ au rezultat 50% femele şi 50% masculi (187 plante femele şi 171 plante mascule).

c) *B. dioica* (X X) ♀ × *B. dioica* (X Y) ♂ în $F_1$ sînt 50% plante femele şi 50% plante mascule, adică raportul între sexe este normal 1 : 1.

Aceasta înseamnă că la *Bryonia dioica* sexul femel este homogametic (X X), iar cel mascul este heterogametic (X Y). Un mecanism similar a fost identificat şi la alte specii : *Cannabis sativa* la care plantele femele au 18 autozomi + X X, iar cele mascule 18 + X Y, *Humulus lupulus* la care indivizii femeli au 18 + X X şi cei masculi 18 + X Y, *Melandrium album*, la care plantele femele au 22 + X X, iar cele mascule 22 + X Y cromozomi etc. S-a mai constatat că la unele specii, cum este *Humulus lupulus*, cromozomul X este mai mare ca Y şi ei pot fi

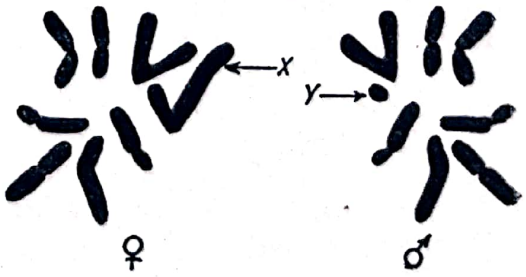



Fig. 67. Cromozomii mitotici la *Sphaerocarpus donnellii* (după Reitberger).

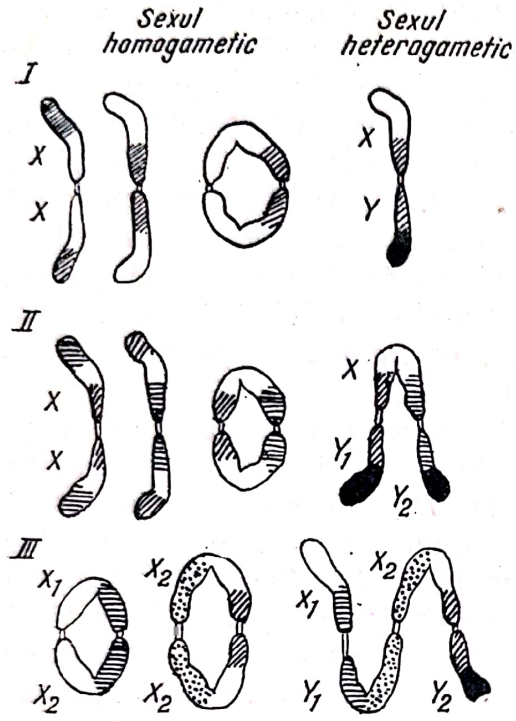



Fig. 68. Împerecherea cromozomilor omologi și separarea lor în anafază la *Melandrium album* (I), la *Humulus japonicum* (II) și *H. lupulus* var. *cordifolnis* (după Darlington, 1937).

relativ ușor deosebiți citologic ; la altele, cum este *Melandrium album*, cromozomul Y este mai mare ca X și pot fi, de asemenea, ușor deosebiți unul de altul. Există însă unele specii la care cromozomii X și Y sînt aproape identici, încît nu pot fi deosebiți morfologic.

La *Humulus japonicus* și unele specii de *Rumex* mecanismul determinismului sexelor este relativ diferit în sensul că plantele femele au 2 cromozomi ai sexului (X X), iar cele mascule au 3 cromozomi sexuali (X $Y_1$ $Y_2$) sau chiar mai mulți. C. Darlington (1963) care a studiat această problemă consideră că cei doi sau mai mulți cromozomi Y provin prin diviziunea greșită a unui cromozom Y inițial.

În sfîrșit, un alt fenomen interesant descoperit la plantele dioice este cel legat de sexul mascul heterogametic la care s-a observat că tuburile polinice ale polenului ce conțin cromozomul Y cresc mai încet decît ale polenului ce conține cromozomul X. De exemplu, la genul *Melandrium* s-a constatat că polenizarea cu polen puțin duce la păstrarea raportului de 1 : 1 între sexe, iar polenizarea abundentă determină o mărire a proporției de plante femele.

## DETERMINISMUL SEXELOR LA MICROORGANISME

Datorită faptului că multe microorganisme reprezintă forme inferioare de viață, la ele se întîlnesc diverse tipuri de mecanisme sexuale, din care unele au fost descoperite foarte recent. În continuare vor fi expuse cîteva din aceste tipuri de determinare sexuală, în special la microorganismele la care există sexe mai bine evidențiate.

La algele verzi din genul *Chlamidomonas* majoritatea ciclului de viață este reprezentat de haplofază, indivizii reproducîndu-se prin diviziuni mitotice în cursul a multe generații. Ocazional însă, acești indivizi formează gameți printr-o serie de diviziuni mitotice rapide, gameți care sînt asemănători cu indivizii obișnuiți, însă ceva mai mici și nu sînt

diferențiați morfologic după sex. Prin unirea a doi gameți proveniți de la genitori diferiți se formează un zigot diploid. Acesta poate trăi inactiv mult timp, însă în condiții favorabile se divide meiotic și formează patru zoospori haploizi care devin alge adulte ce se reproduc asexuat. Ciclul este apoi reluat.

Se pare că acesta este un tip ancestral de reproducere în care predomina haplofaza, iar diplofaza era foarte scurtă, și prin diviziuni reducționale se restabilea tipul normal haploid. Diploidia însă prin avantajele pe care le prezintă a devenit predominantă în ciclul vital, datorită probabil și faptului că nucleul mai mare producea o cantitate sporită de enzime. Prin meioză la organismele evoluate se formează gameți haploizi, care însă au o viață scurtă, prin fecundare restabilindu-se tipul diploid mai evoluat.

La *Chlamidomonas eugametos* gameții sînt morfologic identici, fenomen denumit *izogamie*. Între gameți există însă diferențe fiziologice și biochimice deoarece nu se fecundează decît gameții proveniți de la clone diferite. F. Moewus a constatat că factorul fiziologic care deosebește gameții este dimetil crocetina, o substanță chimică relativ simplă, similară cu izoprenul, care are izomeri cis- și trans- în diferite concentrații. La gameți, concentrația poate varia astfel : de la 5% cis la 95% trans și invers. Sușele care au peste 50% cis-izomeri sînt notate cu (+), iar cele care au sub 50% cis-izomeri cu (—). În general se fecundează (+) cu (—), dar s-a constatat că *există 8 tipuri diferite care se pot fecunda, fenomen care a primit denumirea de sexualitate relativă.*

Unele specii de Chlamidomonas sînt heterogamete, formînd : macrogameți (♀) și microgameți (♂) flagelați. La unele specii se fecundează numai macrogameții cu microgameții, dar la alte specii fecundarea este posibilă astfel :

macrogameți × microgameți

macrogameți × macrogameți

microgameți × microgameți

În sfîrșit, la unele specii mai evoluate, macrogameții sînt neflagelați și nu se pot mișca, ei fiind fecundați exclusiv de microgameții flagelați mobili, la fel ca la organismele superioare.

*Conjugarea la parameci.* Acest tip de sexualitate se observă la ciliate. De pildă, la parameci tipul de reproducere sexuală se cheamă *conjugare.* La parameci fiecare celulă are 2 nuclei : un *micronucleu diploid* genetic activ și un *macronucleu poliploid* vegetativ ce derivă din micronucleu. Organismele se reproduc asexuat multe generații, micronucleii se divid mitotic, iar macronucleii amitotic.

Dacă se întîlnesc indivizi aparținînd la clone diferite ei se împerechează rapid astfel că macronucleii degenerează, în timp ce micronucleii sufăr 2 diviziuni meiotice. Din cei 4 nuclei-fii 3 degenerează, iar al patrulea se divide mitotic, formînd 2 nuclei : unul staționar și unul

migrator. Între cei 2 indivizi care se conjugă are loc un schimb de nuclei migratori, astfel că se realizează o fecundare încrucișată. Celulele care s-au conjugat se separă apoi și nucleii diploizi rezultați din unirea nucleului migrator cu cel staționar se divid pentru a restabili cele 2 tipuri de nuclei : macro- și micronuclei.

La *Paramecium bursaria* s-au descoperit la o varietate 8 tipuri de indivizi care se pot încrucișa, la o alta 4 tipuri și, în fine, la alta 2 tipuri. Fecundarea se realizează numai între tipuri diferite. Acest tip de sexualitate este cunoscut sub denumirea de *sexualitate multiplă.*

La *flagelatele din genul Oxymonas* care trăiesc parazitic la unii pești (cum este *Cryptocerus),* s-a observat de către *L. R. Cleveland* (1950) că meioza nu este formată decît dintr-o singură diviziune, și nu din două diviziuni, cum este cazul la majoritatea plantelor și animalelor superioare. Se consideră că tipul cu 2 diviziuni este un tip secundar, derivat probabil din tipul de meioză cu o singură diviziune.

*Microorganismele prezintă deci o multitudine de mecanisme sexuale : sexualitate relativă, sexualitate multiplă, conjugare* și *meioză cu o singură diviziune.* La bacterii au fost identificate alte tipuri de reproducere similare cu cea sexuală, cum sînt *conjugarea și transducția,* iar la virusuri s-a descoperit *recombinarea genetică.*

În concluzie se poate remarca că la microorganisme mecanismul reproducerii sexuate este mai puțin specializat, în multe cazuri mecanismul cromozomial nici nu poate fi evidențiat. Aceasta înseamnă că la formele inferioare de viață sexualitatea are un caracter mai primitiv, realizîndu-se numai prin unele diferențieri morfologice, fiziologice și biochimice, pentru ca la organismele superioare să apară mecanismul cromozomial cu o înaltă specializare și precizie.

## RAPORTUL CROMOZOMIAL X/A ȘI X/Y ÎN DETERMINISMUL GENETIC AL SEXELOR

O problemă importantă privind determinismul sexelor este următoarea : care este funcția genetică a cromozomilor sexuali X și Y, precum și a autozomilor ?

La *Drosophila melanogaster* a făcut cercetări în această direcție C. B. Bridges (1925), care a descoperit întîmplător un individ femel triploid (3 *n*). Din încrucișarea acestuia cu indivizi normali diploizi s-a obținut o întreagă gamă de indivizi diploizi, triploizi și tetraploizi la care numărul de autozomi și heterozomi era variabil. Mai mult, deși în mod normal în spermatogeneză se produce disjuncția celor doi cromozomi

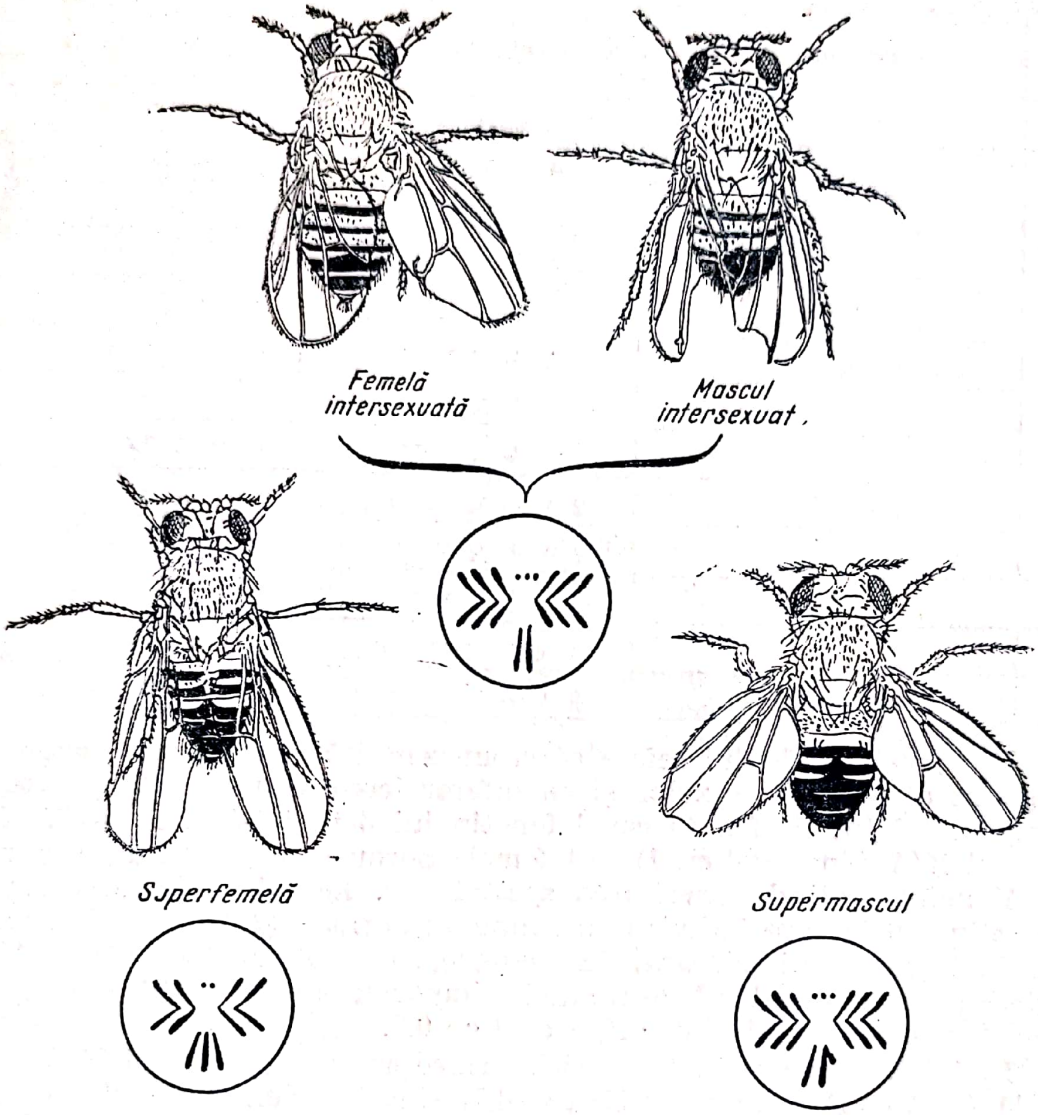



Fig. 69. Indivizi intersexuaţi şi supersexuaţi de *Drosophila melanogaster* (după B r i d g e s).

sexuali din celulele organismului mascul astfel încît jumătate din gameţi poartă cromozomul X şi jumătate pe cel Y şi în ovogeneză se petrece disjuncţia celor doi cromozomi X şi trecerea lor în gameţi femeli diferiţi, în unele cazuri, de altfel foarte rare, se poate întîmpla ca această disjuncţie să nu se petreacă. Ca atare pot apărea gameţi femeli care poartă doi cromozomi X şi alţii care nu au deloc cromozom X, precum şi gameţi masculi care poartă ambii cromozomi sexuali (X Y) şi alţii fără. Prin unirea unor astfel de gameţi cu gameţi normali rezultă indivizi care posedă un număr variabil de cromozomi sexuali. Iată cîteva din tipurile de indivizi obţinuţi în această experienţă (o garnitură de trei cromozomi autozomi este notată în tabelul următor cu litera A) :

Scanned with OKEN Scanner

| Nr. crt. | Fenotipul | Constituţia cromozomică | Raportul X/A |
|---|---|---|---|
| 1 | superfemelă | 2 A + X X X | 1,5 |
| 2 | femelă | 2 A + X X | 1,0 |
| 3 | „ | 2 A + X X Y | 1,0 |
| 4 | „ | 3 A + X X X | 1,0 |
| 5 | „ | 4 A + X X X X | 1,0 |
| 6 | intersexuat | 4 A + X X X | 0,75 |
| 7 | „ | 3 A + X X | 0,67 |
| 8 | „ | 3 A + X X Y | 0,67 |
| 9 | mascul | 2 A + X | 0,5 |
| 10 | „ | 2 A + X Y | 0,5 |
| 11 | „ | 2 A + X Y Y | 0,5 |
| 12 | „ | 4 A + X X | 0,5 |
| 13 | supermascul | 3 A + X | 0,33 |

Din datele tabloului reiese că cromozomul Y nu este un factor determinant al apariţiei sexelor şi că diferenţierea sexuală este provocată de raportul X/A. Astfel, în cazul fenotipului 3 indivizii 2 A + X X Y (raportul X/A fiind egal cu 1) sînt femele normale, prezenţa unui cromozom Y neinfluenţînd dezvoltarea acestui sex. La fel se poate constata la fenotipul 9 la care indivizii sînt masculi normali (2 A + X) şi la fenotipul 12 la care indivizii sînt, de asemenea, masculi normali (4 A + X X) că absenţa cromozomilor Y n-are nici o importanţă şi că sexul mascul este determinat de raportul dintre X/A egal cu 0,5.

Indivizii care prezintă valori intermediare ale raportului X/A între femelă (X/A = 1) şi mascul (X/A = 0,5) sînt intersexuaţi sterili, iar cei care prezintă valori ale raportului X/A mai mari decît la femelă şi mai mici decît la mascul sînt superfemele şi respectiv supermasculi. Aceşti indivizi sînt de fapt asemănători fenotipic cu femela sau cu masculul, dar sînt sterili.

De asemenea, se poate remarca din tabel că prezenţa a 2 cromozomi X nu determină întotdeauna sexul femel, aşa cum ar fi fost normal. În cazul fenotipurilor 7 şi 12 indivizii deşi au 2 cromozomi X sînt intersexuaţi sau respectiv masculi, fapt determinat de prezenţa suplimentară a uneia sau a două garnituri de autozomi. Este evident deci rolul important al autozomilor în determinismul genetic al sexelor.

Din aceste cercetări se poate trage concluzia că *la Drosophila melanogaster sexul este determinat de raportul între cromozomii X şi autozomi (X/A), primii conţinînd mai multe gene ce determină feminitatea, iar ultimii mai multe gene ce determină masculinitatea.*

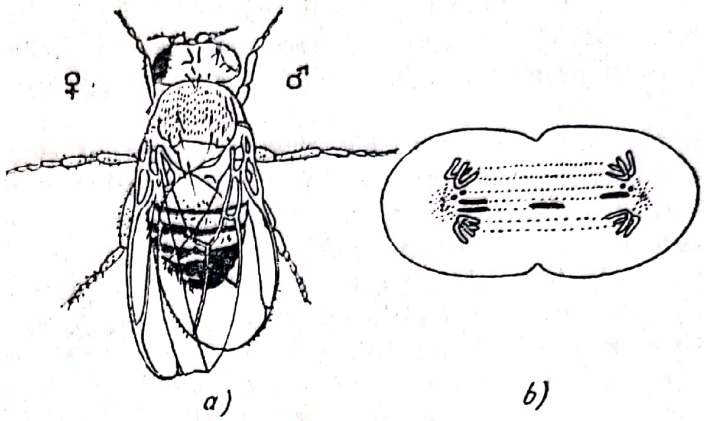



Fig. 70. Un individ ginandromorf de *Drosophila melanogaster* (a). Schema pierderii unui cromozom X la prima diviziune celulară a oului fecundat (b) (după Kühn, 1962)

Trebuie adăugat că descoperirea unor indivizi *ginandromorfi* (de la cuvintele greceşti *gyn* = femelă şi *andro* = mascul), care într-o parte a corpului sînt fenotipic femelă şi în alta sînt fenotipic masculi, a contribuit, de asemenea, la lămurirea determinismului genetic la *Drosophila melanogaster*. Un astfel de individ heterozigot pentru caracterele ochi albi *(w)* şi aripi reduse *(m)*, avea constituţia genetică + + /*w m*, ambele gene fiind plasate pe cromozomul X. Ca urmare, individul ginandromorf respectiv avea o jumătate a corpului normală şi o jumătate ce prezenta cele două mutaţii, dar nu existau regiuni amestecate. Se pare că apariţia unui astfel de individ s-a datorat unei non-disjuncţii a cromozomilor sexului la prima diviziune a zigotului.

În sfîrşit s-a constatat că şi mediul are un rol în dezvoltarea sexelor la *Drosophila melanogaster*, deoarece la indivizii intersexuaţi crescuţi la temperatură mai ridicată predomină tipul femel, iar la temperatură joasă predomină cel mascul.

La *Melandrium album*, specie diodică la care plantele femele au 22 autozomi + X X, iar cele mascule 22 autozomi + X Y, s-au studiat tetraploizii obţinuţi prin tratamentul cu colchicină al plantelor diploide. S-au obţinut o mulţime de tipuri de plante diferite în ce priveşte sexul şi constituţia cromozomică. Iată cîteva dintre acestea şi raportul X/Y :

| Fenotipul | Constituţia cromozomică | Raportul X/Y |
|---|---|---|
| femelă 2 *n* | 2 A + X X | 0 |
| femelă 4 *n* | 4 A + X X X X | 0 |
| mascul 2 *n* | 2 A + X Y | 1 |
| mascul 4 *n* | 4 A + X X Y Y | 1 |
| mascul 4 *n* | 4 A + X X Y | 2 |
| mascul 4 *n* | 4 A + X X X Y | 3 |
| hermafrodit | 4 A + X X X X Y | 4 |

Din datele tabelului reiese că la *Melandrium album sexul este determinat de raportul dintre cromozomii sexului X/Y, deoarece în timp ce genele pentru feminitate sînt plasate pe cromozomul X, cele pentru masculinitate sînt plasate pe cromozomul Y, şi nu pe autozomi ca la Drosophila melanogaster*. Ca urmare, pentru dezvoltarea sexului mascul este absolut necesară prezenţa cromozomului Y a cărui valoare în determinismul sexului este aproximativ egală cu a 4 cromozomi X. Din ultima rubrică a tabelului de mai sus se poate observa că numai în cazul cînd plantele tetraploide au raportul X/Y egal cu 4 ele devin hermafrodite, în timp ce prezenţa chiar a 3 cromozomi X şi a unuia Y nu poate modifica tipul mascul al plantelor.

## DETERMINISMUL CITOPLASMATIC ŞI NUCLEO-CITOPLASMATIC AL SEXELOR

Deşi mecanismul cromozomial al sexelor este foarte răspîndit în special la animalele superioare şi la plantele dioice, el asigurînd cu o mare fidelitate determinarea genetică a sexelor şi păstrarea unui anumit raport între masculi şi femele, s-a constatat că şi alte procese necromozomiale intervin în aceste fenomene.

*Determinarea citoplasmatică a sexelor* a fost observată la viermele marin *Dinophilus* la care femela depune ouă mari cu multă citoplasmă din care apar femele şi ouă mici cu puţină citoplasmă din care se vor naşte masculi. Toate cercetările efectuate la această specie au dus la concluzia că exclusiv cantitatea de citoplasmă a oului este cea care determină sexul şi că cromozomii n-au nici un rol în determinismul acestui fenomen.

*Determinismul nucleo-citoplasmatic al sexelor* a fost pus în evidenţă de către R. Goldschmidt (1934), pe baza unor experienţe la lepidopterul *Lymantria dispar* (omida păroasă a stejarului). Insecta adultă prezintă un puternic dimorfism sexual şi o particularitate a constituţiei cromozomice, şi anume masculii au cromozomii X X şi femelele X Y. R. Goldschmidt a efectuat încrucişări între masculi şi femele proveniţi din Europa cu femele şi masculi proveniţi din nordul şi sudul Japoniei şi a obţinut următoarele rezultate :

| Nr. încrucişării | Genitorii | Fi | Fiice |
|---|---|---|---|
| 1 | European „slab" ♀ × Japonez „puternic" ♂ | normali | intersexuate |
| 2 | Japonez „puternic" ♀ × European „slab" ♂ | normali | normale |
| 3 | $F_2$ din încrucişarea 1 | normali | 1/2 normale<br>1/2 intersexuate |
| 4 | $F_2$ din încrucişarea 2 | 1/2 normali<br>1/2 intersexuaţi | normale |

La interpretarea acestor date R. G. Goldschmidt a pornit de la presupunerea că sexul insectei este determinat de interacţiunea factorilor masculinizatori purtaţi în cromozomii X X cu cei feminizatori ai cromozomului Y şi ai citoplasmei şi că aceşti factori variază ca „tărie". În oricare dintre rase aceşti factori sînt astfel aranjaţi încît cele două doze masculinizante (în cei doi cromozoni X) domină factorii feminizanţi ai citoplasmei şi produc un mascul normal, iar o doză masculinizantă (a cromozomului X) este dominată de caracterul feminizant al citoplasmei şi a cromozomului Y, dînd naştere unei femele. Aceşti factori ai sexului sînt relativ „slabi" la rasa europeană şi „puternici" la cele japoneze. În consecinţă, dacă se încrucişează o femelă de rasă europeană „slabă" cu un mascul japonez „puternic", cromozomii X ai descendenţilor masculi vor fi unul de la rasa slab masculinizată şi altul de la rasa puternic masculinizantă, ei fiind normali ca aspect şi caractere sexuale. În schimb descendenţii cu cromozomii X Y (femele) vor fi intersexuaţi datorită interacţiunii celor doi factori feminizanţi slabi ai mamei (citoplasma şi cromozomul Y) cu un singur factor masculinizant puternic moştenit de la tată. Prin celelalte încrucişări, Goldschmidt a pus în evidenţă diferite tipuri de organisme intersexuate, masculi şi femele, ce pot fi deosebiţi la insecta analizată după constituţia lor cromozomică.

R. G. Goldschmidt a mai arătat că între factorii sexuali „slabi" şi „puternici" pot fi găsite toate tipurile intermediare la diferite rase de *Lymantria dispar* cu areale de viaţă deosebite. Cea mai „slabă" rasă se găseşte în nordul Insulei Hokkaido în timp ce cea mai „puternică" se întîlneşte în nordul Insulei Honshu. Din încrucişările acestor rase nu rezultă indivizii intersexuaţi, ci se produce o *transformare sexuală, o reversie a sexelor,* adică unii dintre indivizii X Y se dezvoltă ca indivizi masculi, şi indivizii X X ca femele. Aceste cazuri dovedesc că fenotipul sexual poate fi opus structurii cromozomice la această insectă.

Cercetările lui R. Goldschmidt la *Lymantria dispar* au dovedit astfel că în unele cazuri *sexul este determinat de interacţiunea factorilor cromozomiali din nucleu şi cei citoplasmatici.*

## HORMONII ŞI EREDITATEA SEXELOR

Hormonii sexuali, produs secundar al gonadelor de la vertebrate, pot influenţa considerabil dezvoltarea caracterelor sexuale secundare şi chiar determină reversia sexelor la unele specii.

Numeroase cercetări în această direcţie s-au efectuat la păsări şi în special la găini, la care caracterele secundare sexuale sînt bine exprimate şi există posibilitatea transplantării ovarelor şi testiculelor de la un sex la altul, datorită absenţei barierei antigene-anticorpi. În primul rînd s-a constatat că prin *gonadotomie,* atît masculii cît şi femelele

capătă un aspect particular al penajului și crestei, devenind oarecum păsări fără sex, „neutre". Prin transplantarea de ovare la un cocoș castrat (clapon), el devine găină nefuncțională și în cazuri rare chiar funcțională.

De altfel s-a constatat că și în mod natural din cauza unor maladii care afectează ovarele sau testiculele, găinile și cocoșii se pot autocastra și deveni păsări „neutre" ca sex. Un caz de reversie totală a sexelor a fost observat de F. A. E. Crew la o găină care după ce a produs normal ouă, la vîrsta de 3 ani și jumătate a început să capete caracteristici de cocoș și mai tîrziu a devenit chiar mascul funcțional. Studiul acestei păsări a arătat că avea ovarele distruse de o tumoră și că avea două testicule bine dezvoltate și cu „vasa deferentia" normale. S-a pus astfel în evidență că *la păsări este posibilă reversia totală a sexelor, în sensul că un individ care cromozomial are un anumit sex se poate transforma în sexul opus sub influența hormonilor sexuali.*

La amfibieni s-a reușit ca prin tratamente cu hormoni sexuali să se provoace, de asemenea, inversarea totală a sexelor. De pildă, V. Preda și Al. Crăciuneanu (1954) au tratat mormoloci de broască *(Rana temporaria)* cu hormon gonadotrop placentar (prolan) și au constatat că din acești mormoloci se dezvoltă exclusiv femele. În mod natural s-a constatat că la masculii de broască, pe lîngă testicule se află o pereche de organe reduse care sînt potențial ovare (organele lui Bidder). Dacă testiculele devin nefuncționale din cauza unei maladii sau sînt îndepărtate experimental, ovarele potențiale se dezvoltă și masculul se transformă în femelă funcțională. Este deci vorba de un fenomen de reversie totală a sexelor.

La mamifere un exemplu interesant de influențare hormonală a sexului îl constituie fenomenul de *freemartinism* observat la unele animale domestice, în special la taurine. S-a constatat de multă vreme că gemenii de același sex sînt normali, iar în cazul unor gemeni de sex opus femelele sînt adesea anormale, prezentînd unele caractere sexuale masculine și fiind sterile. O astfel de femelă anormală se cheamă *freemartină.* Explicația fenomenului a fost dată de F. R. Lilie de la Universitatea din Chicago care a constatat că freemartinismul apare numai atunci cînd cele două placente fuzionează permițînd un schimb de sînge între embrioni. Ca urmare hormonii sexuali masculi ce încep a fi secretați ceva mai devreme decît cei femeli trec de la embrionul mascul spre cel femel, care se dezvoltă astfel anormal prezentînd unele caractere mascule. În cazul în care placentele nu fuzionează, nu apare fenomenul de freemartinism. La taurine fenomenul de freemartinism apare la aproximativ 92% din cazurile de gemeni de sex opus.

Din cauză că la mamifere transplantarea de organe este extrem de dificilă, studiile privind influența hormonilor sexuali s-au efectuat prin castrarea animalelor și prin injectarea de hormoni de la sexul opus. Cercetările în această direcție au demonstrat că gonadele embrionilor au în prima parte a dezvoltării lor potențialități pentru dezvoltarea spre am-

Scanned with OKEN Scanner

bele sexe, după care tipul sexual cromozomial X X sau X Y începe să se manifeste prin intermediul hormonilor sexuali, astfel că individul devine mascul sau femelă. Ulterior se pare că menținerea unui anumit sex este determinată de prezența hormonilor sexuali, iar rolul cromozomilor sexuali este foarte redus sau chiar inexistent.

## MEDIUL ȘI DETERMINISMUL SEXUAL

Pe lîngă mecanismul cromozomial de determinare genetică a sexului, există și alte mecanisme necromozomiale care au rol important în determinismul sexual, în special la organismele inferioare. Un exemplu clasic îl constituie viermele marin *Bonellia viridis* la care femela are un corp globular cu diametru de aproximativ 5 cm și o trompă absorbantă lungă de circa 10 cm, iar masculul este mult mai mic (1—2 mm) și cu o organizație internă mult simplificată datorată vieții parazite în tractul genital al femelei. Dacă larvele sînt crescute izolat devin femele, iar dacă sînt crescute într-un vas cu femele ele sînt atrase de trompa acestora, pătrund în interior unde duc o viață parazită și devin masculi, rămînînd foarte mici. În cazul în care larvele au stat un timp în trompa femelei și apoi sînt desprinse ducînd viață independentă devin animale hermafrodite. Experimental s-a reușit transformarea masculilor în femele prin creșterea lor în acvarii cu apă de mare la care s-au adăugat cantități infime de acid clorhidric sau sulfat de cupru. Acest exemplu dovedește că sexul nu este determinat în timpul fecundării ovulului, ci mai tîrziu, în faza de dezvoltare timpurie a larvelor și că procesul depinde de condițiile de mediu.

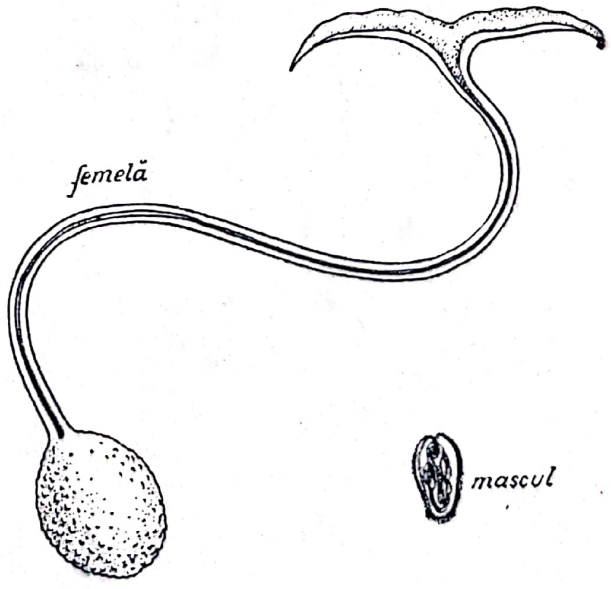



Fig. 71. Indivizi de *Bonellia viridis*.

Un alt exemplu de determinare necromozomială a sexului îl constituie *fenomenul protandriei* observat la unele animale, prin care ele se dezvoltă la început ca masculi și apoi se transformă în femele. De pildă, la scoica papuc din genul de moluște marine *Crepidula*, masculul care s-a împerecheat cu o femelă își păstrează multă vreme sexul, în timp ce un mascul care nu este capabil să-și găsească pereche se transformă foarte rapid în femelă.

La moluștele din genul *Teredo* s-a constatat că transformarea masculilor în femele se face timpuriu, astfel că 90% din populația adultă este formată din femele. Numărul mic de masculi tineri este însă suficient — dată fiind fertilitatea lor mare — să asigure fecundarea tuturor femelelor.

Deosebit de interesantă este determinarea sexului la viermele nematod *Mermis subnigrescens*. Acesta își depune ouăle pe frunze care fiind mîncate de lăcuste ajung în intestinul acestora unde are loc ecloziunea. Larvele pătrund apoi în corpul lăcustei, unde își completează dezvoltarea, ducînd o viață parazită, viermii părăsind la maturitate gazda pentru a trăi liberi în pămînt. Sexul viermilor nu este determinat genetic, ci el depinde de numărul paraziților care infectează o aceeași lăcustă : dacă numărul este de 1—3 indivizi, ei devin femele, care se reproduc partenogenetic ; dacă numărul paraziților este de 4—23, ei se transformă o parte în masculi, o parte în femele și o parte sînt intersexuați ; în fine, cînd numărul de paraziți este mai mare de 24, ei devin toți masculi.

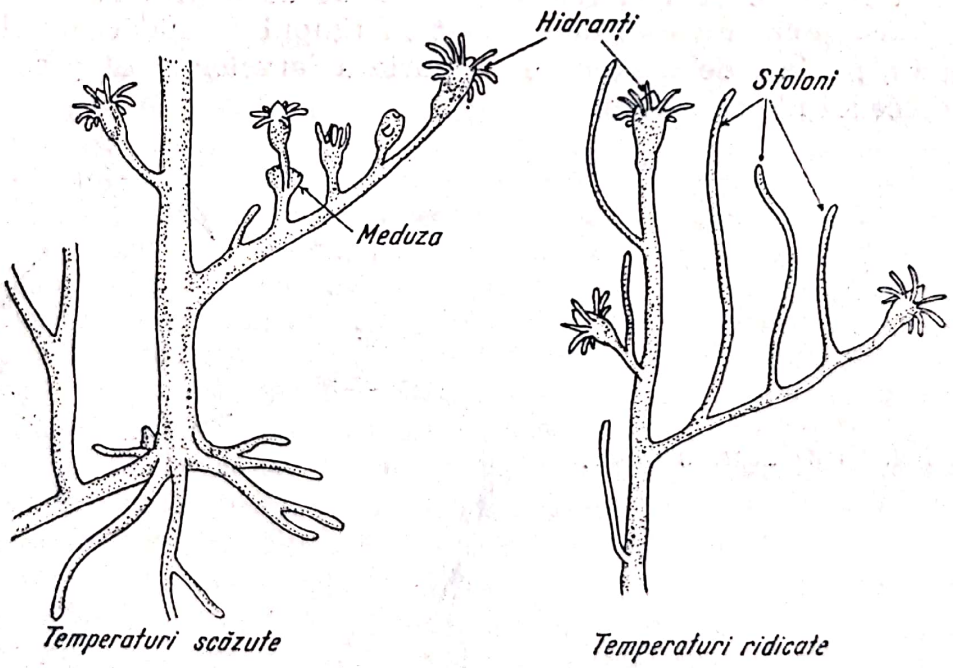



Fig. 72. Influența temperaturii asupra sexelor la celenteratul *Bougainvillia*.

Un exemplu de modificare a sexelor sub influența temperaturii îl constituie celenteratul *Bougainvillia.* La acest animal embrionul crește, formînd o structură tubulară denumită *stolon,* care dă naștere unor formații denumite *hidranți,* prevăzute cu tentacule pentru prinderea hranei. Stolonul și hidranții reprezintă înmulțirea vegetativă a animalului. La temperaturi mai ridicate se formează stoloni, iar la temperaturi mai scăzute este favorizată formarea de hidranți. În cazul unor temperaturi și mai scăzute stolonul dă naștere unor *meduze,* care se detașează și formează ovule și spermatozoizi, care reprezintă tipul sexuat de înmulțire. Ca și stolonii, meduzele depind foarte mult de temperatura mediului. La temperaturi mai ridicate la care creșterea este mai rapidă, meduzele formează numai ovule, fiind deci de sex femel, la temperaturi mijlocii meduzele formează ovule și spermatozoizi, devenind deci indivizi hermafroditi, iar la temperaturi foarte scăzute meduzele formează numai spermatozoizi devenind indivizi masculi.

La alte specii se observă că pe lîngă determinismul cromozomial al sexelor, condițiile de mediu influențează în mare măsură raportul dintre sexe și modul de reproducere : sexuat sau partenogenetic. Astfel la afidele din genul *Phyloxera* s-a constatat că din ouăle de rezistență de peste iarnă și care au $2n = 6$ apar în primăvară numai femele, ce se reproduc în tot cursul verii exclusiv partenogenetic. Toamna are loc însă o diviziune mitotică atipică, un cromozom rămînînd în placa ecuatorială, astfel că se formează 2 nuclei : unul cu 6 cromozomi din care se dezvoltă o femelă și unul cu 5 cromozomi din care se dezvoltă un mascul. Masculul produce 2 tipuri de gameți : cu 3 și cu 2 cromozomi. În urma fecundării cu ovule cu 3 cromozomi apar celule-ou sau zigoți cu 5 cromozomi care degenerează și cu 6 cromozomi care sînt tocmai ouăle de rezistență de peste iarnă (tipul Protenor de ereditate a sexului). Ciclul se reia apoi. Se poate ușor remarca că este vorba de o variație sezonieră a modului de reproducere, în care condițiile de mediu își suprapun influența asupra determinismului cromozomial al sexelor.

La viermele nematod *Angiostomum nigrovenosum* modul de reproducere sexuat sau partenogenetic, este determinat nu numai cromozomial, ci și de modul de viață parazitară sau neparazitară. Generațiile parazite pe broască sînt hermafrodite și au $2n = 24$ cromozomi, iar generațiile neparazite au sexele separate : femelele au $2n = 24$ și masculii $2n = 23$. La generația hermafroditâ ovogeneza este normală, iar spermatogeneza este anormală : o parte din spermatozoizi (50%) avînd $n = 12$ și altă parte (50%) avînd $n = 11$. Ca urmare se obțin în urma fecundării două tipuri de indivizi liberi : femele ($2n = 24$) și masculi ($2n = 23$). La femelele neparazite ovogeneza este din nou normală, dar la masculii care produc spermatozoizi cu $n = 11$ și $n = 12$ se constată că toți spermatozoizii cu $n = 11$ degenerează. Datorită acestui fapt, în urma fecundării apar exclusiv zigoți cu $2n = 24$ din care rezultă indivizi hermafroditi, iar ciclul este apoi reluat.

La plante s-a remarcat de multă vreme că sub influența condițiilor modificate de mediu (lungimea zilei, temperatura, umiditatea etc.) au

loc schimbări importante privind raportul dintre sexe și modificări profunde ale inflorescențelor. Astfel la cînepă, care este plantă dioică, prin cultivarea sa iarna în seră, sub influența zilelor scurte se mărește proporția de plante femele de la 50% la 80—90%. În mod similar s-a remarcat la porumb (P. Raicu și T. Crăciun, 1956) că sub influența timpului ploios, cu temperaturi mai scăzute și cu luminozitate redusă din vara anului 1955 au apărut în mod natural modificări importante ale inflorescențelor mascule și femele, cum sînt: apariția de flori femele în paniculul mascul, ramificarea parțială a știuletelui și formarea de flori mascule în inflorescența femelei, sterilitatea totală sau parțială a florilor etc., mărindu-se apreciabil proporția de flori femele. Modificarea morfologică a inflorescențelor și transformarea unor flori mascule în flori femele s-au datorat schimbării mai ales a regimului de lumină a plantelor de porumb, originare din regiunile tropicale și subtropicale ale Americii și care sînt adaptate la zile scurte cu lumină intensă și temperaturi ridicate. În mod similar P. Raicu (1956, 1960) a reușit pe cale artificială, prin modificarea regimului de lumină la plantele de *Triticum aestivum,* să determine modificarea inflorescențelor și apariția de spice ramificate, cu mai multe spiculețe și flori de tip „multiflorus", precum și formarea mai multor stamine și stigmate decît normal în aceeași floare.

Din aceste date reiese că *la unele plante și animale (în special la cele inferioare) condițiile de mediu au un rol important în determinismul sexelor, alături de mecanismul cromozomial.*

## CARACTERE LEGATE DE SEX (SEX LINKAGE) ȘI LIMITATE LA UN SEX (SEX LIMITED)

Descoperirea mecanismului cromozomial al determinării sexelor a determinat o altă descoperire, și anume faptul că *unele caractere se transmit la descendenți legate de un anumit sex (fenomenul de sex-linkage).*

T. Morgan și colaboratorii studiind numeroase mutante la *Drosophila melanogaster* au descoperit un mascul cu ochi albi, caracter determinat de o genă recesivă *(w)* care se deosebea considerabil de tipul normal cu ochii roșii ($w^+$). Din încrucișarea masculului cu ochi albi cu femele normale, în $F_1$ au rezultat exclusiv descendenți cu ochi roșii (caracter dominant), iar în $F_2$ s-a produs segregarea mendeliană de 3 cu ochi roșii la 1 cu ochi albi. S-a constatat însă că toți indivizii din $F_2$ cu ochi albi erau masculi. Pe baza acestei constatări s-a încercat experimental obținerea unor femele cu ochi albi. În acest scop au fost încrucișate femele cu ochii roșii heterozigote ($w^+w$) rezultate din $F_1$ cu masculi cu ochi albi (back-cross), rezultînd, așa cum era de așteptat în asemenea

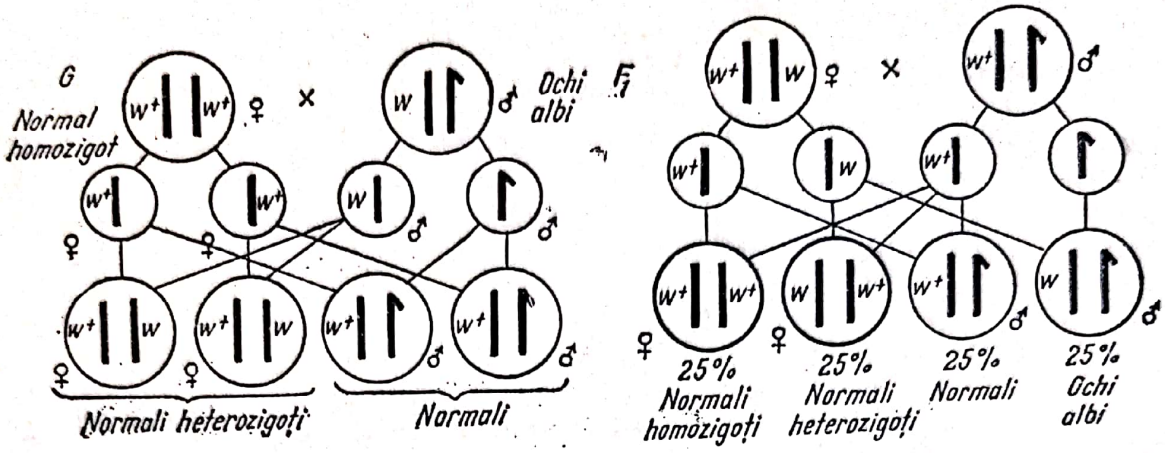



Fig. 73 a. Rezultatele încrucișării între o femelă normală (*w+ w+*) și un mascul cu ochi albi (*w*).

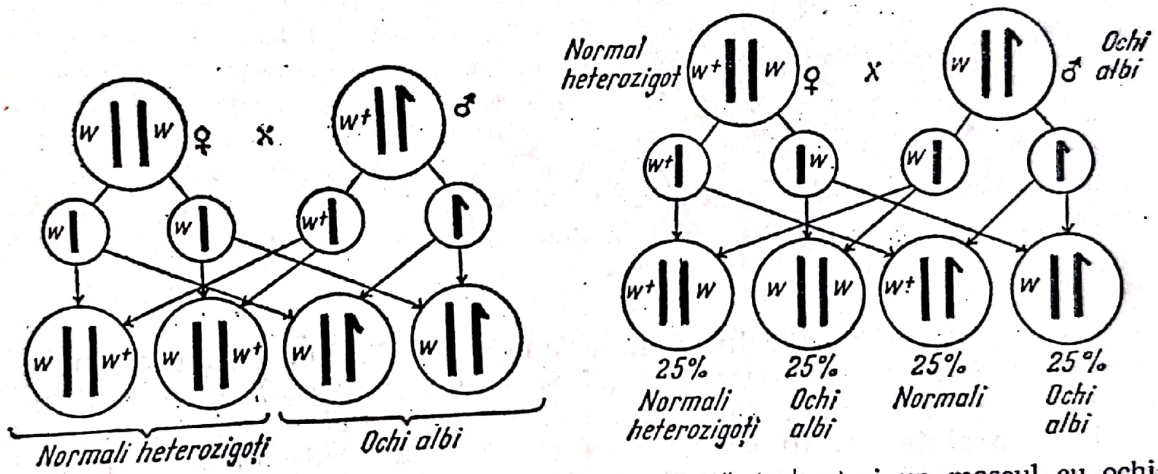



Fig. 73 b. Idem între o femelă normală heterozigotă (*w+ w*) și un mascul cu ochi albi (*w*).

încrucișări, 50% indivizi cu ochi roșii, dintre care 1/2 femele și 1/2 masculi, și 50% indivizi cu ochi albi dintre care 1/2 femele și 1/2 masculi. În continuare T. Morgan a încrucișat femele cu ochi albi cu masculi de tipi sălbatic (cu ochi roșii) și a obținut 50% femele heterozigote cu ochi roșii și 50% masculi cu ochi albi.

Din aceste experiențe s-a tras concluzia că gena *w* ce determină caracterul de „ochi albi" este plasată pe cromozomul X, întrucît transmiterea sa din generație în generație urmează calea transmiterii cromozomului X provenit de la organismul cu ochi albi. Cum cromozomul X determină și sexul, concluzia normală care decurgea era aceea că avem de-a face cu un fenomen de transmitere ereditară a unui caracter legat de cromozomii sexului *(sex-linkage)*. În ce privește cromozomul Y s-a constatat că el nu poartă o genă alelă (pereche) pentru ochi albi.

Scanned with OKEN Scanner

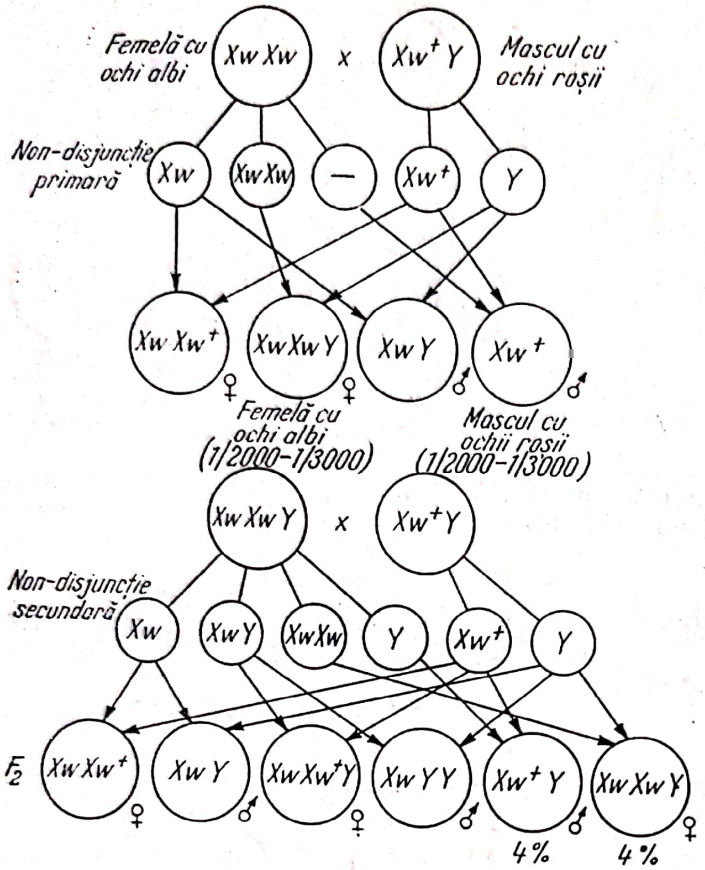



Fig. 74. Nondisjuncția primară și secundară la *Drosophila melanogaster*.

C. B. Bridges reluînd experiențele lui T. Morgan de încrucișare între femele cu ochi albi (X w X w) și masculi cu ochii roșii (X w+Y), care produce în $F_1$ masculi cu ochi albi și femele cu ochi roșii, a constatat că în cazuri rare (1/2 000 sau 1/3 000) apar indivizi care nu respectă această regulă. Pentru a explica acest fenomen el studiază citologic problema și ajunge la concluzia că se datorește faptului că în meioza femelelor cromozomii X X nu se separă *(nondisjuncție primară)*, astfel că apar ovule cu doi cromozomi X și altele fără nici unul. Prin fecundarea acestor ovule apar tipurile care nu respectă regula, adică : femele cu ochi albi (Xw Xw Y) și masculi cu ochi roșii (X w+).

Prin încrucișarea femelelor cu ochi albi din $F_1$ (X w X w Y) cu masculi normali (X w+ Y) se observă la femele că din nou cei 3 cromozomi sexuali nu se separă normal *(non-disjuncție secundară)*. Ca urmare apar în $F_2$ circa 96% femele cu ochi roșii și 4% cu ochi albi, iar printre masculi 96% au ochi albi și 4% ochi roșii.

Cercetările lui C. B. Bridges constituie o dovadă citologică valoroasă în sprijinul teoriei cromozomiale a determinării sexului.

Prin experiențe similare s-au descoperit la *Drosophila melanogaster* cel puțin încă 140 de alte gene care urmează aceeași cale de transmitere ca a genei pentru ochi albi, ceea ce indică, de asemenea, că ele sînt purtate de cromozomul X, prin fenomenul de sex-linkage, fapt de care

s-a ţinut seama în alcătuirea hărţilor cromozomiale. Cu ocazia acestor experienţe s-a mai tras o concluzie interesantă, şi anume că genele plasate în cromozomul X al *Drosophilei melanogaster* nu au alele pe cromozomul Y. Acesta este motivul pentru care, deşi masculul poartă gena recesivă pe un singur cromozom, caracterul respectiv se manifestă totuşi în fenotip.

*Genele recesive de pe cromozomul X care nu au alele pe cromozomul Y se cheamă gene hemizigote, ele putîndu-se manifesta atît în stare homozigotă la femele cît şi la masculi unde nu se află sub formă de alele.* De asemenea, pot fi considerate gene hemizigote, genele recesive ale organismelor haploide care se manifestă fără să se afle sub formă de alele.

Pe cromozomul Y de la *Drosophila melanogaster* a fost descoperită o singură genă recesivă care determină absenţa perişorilor de pe corp *(bb)* şi care se găseşte şi pe cromozomul X. Ca urmare, femelele manifestă acest caracter cînd gena se află în stare homozigotă pe ambii cromozomi X, iar masculii manifestă caracterul cînd gena se află pe ambii cromozomi sexuali (X Y). În general însă, cromozomul Y este lipsit de gene alele corespunzătoare celor de pe cromozomul X, atît dominante cît şi recesive. Cromozomul Y este format în mare măsură din *heterocromatină* vizibilă parţial şi în interfază, în timp ce cromozomul X este format din *eucromatină.* Datorită alcătuirii lor diferite şi absenţei genelor alele, între cromozomii X şi Y de la *Drosophila melanogaster,* precum şi de la alte multe specii este imposibil fenomenul de crossing-over la masculi, fapt descoperit de un colaborator al lui T. Morgan, şi anume C. B. Bridges. În fond este vorba de o neidentitate atît citologică cît şi genică între cromozomii sexuali de la masculi (X Y), fapt care împiedică posibilitatea unui schimb de gene (crossing-over) între cei doi cromozomi sexuali pereche.

Un exemplu interesant de transmitere ereditară a unor caractere legate de sex a fost remarcat la găini, în special în ce priveşte transmiterea culorii penajului la încrucişarea dintre rasele Barred Plymouth Rock (penaj porumbac) şi Langsham (penaj negru). După cum se ştie, la păsări femelele sînt heterogametice (X Y sau Z W) şi masculii sînt homogametici (X X sau Z Z). Din încrucişarea unei găini porumbace care prezintă gena dominantă pentru penajul porumbac *(B)* plasată pe cromozomul Z cu un cocoş negru care prezintă gena recesivă corespunzătoare în stare homozigotă *(b b),* se obţin în $F_1$ puici negre şi cocoşei porumbaci. Prin încrucişarea acestor păsări, în $F_2$ se obţin 50% păsări porumbace şi 50% păsări negre în cazul ambelor sexe.

Prin încrucişarea inversă între găini negre *(b)* şi cocoşi porumbaci *(B B),* în prima generaţie *($F_1$)* toate păsările sînt porumbace, iar prin încrucişarea acestora rezultă în $F_2$ cocoşi exclusiv porumbaci şi găini jumătate porumbace şi jumătate negre.

La om sînt cunoscute, de asemenea, o seamă de gene care se transmit la descendenţi legate de sex. După datele lui V. A. McKusick

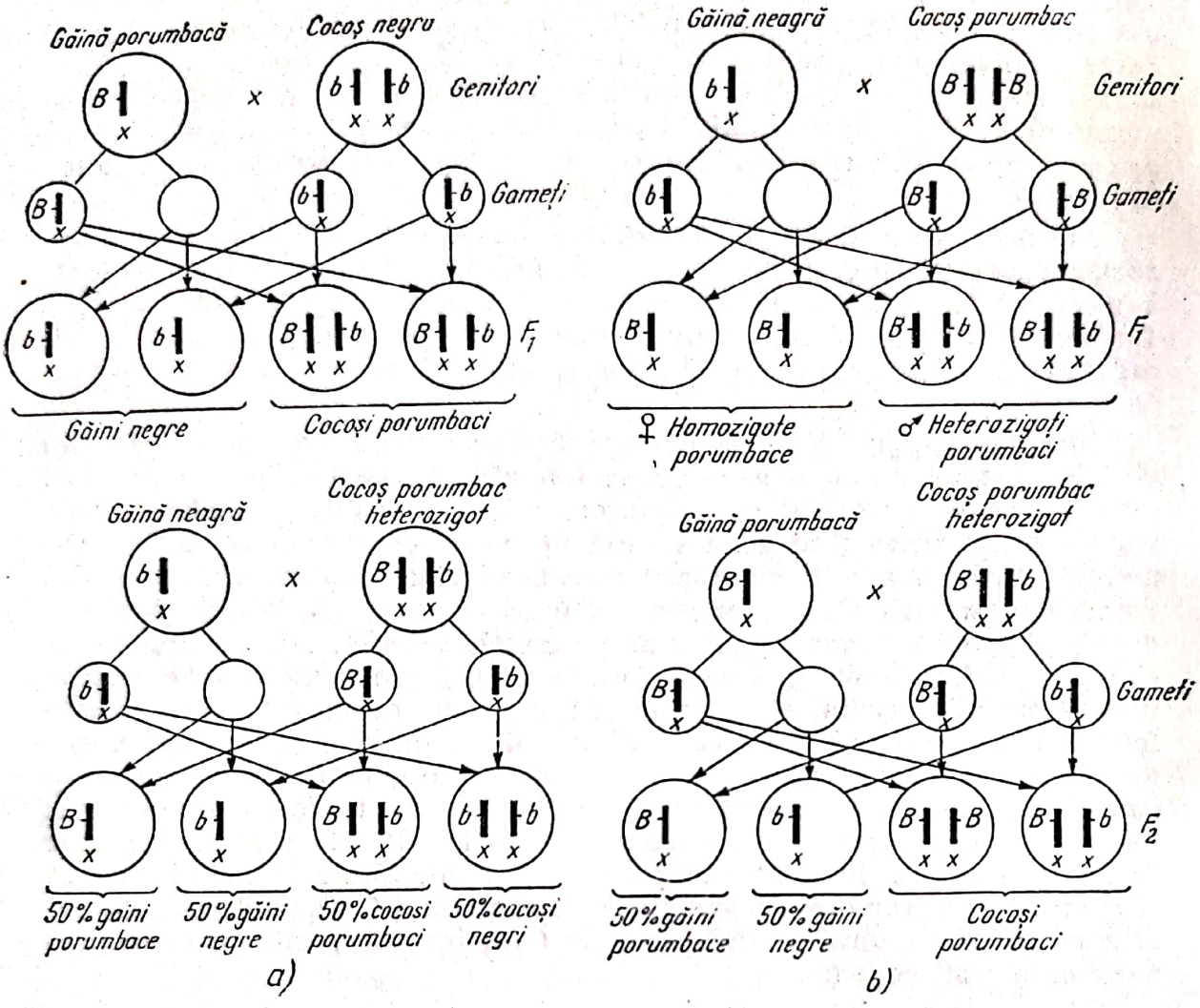



Fig. 75 a și b. Fenomenul de sex-linkage la încrucișarea dintre rasa de găini Barred Plymouth Rock (penaj porumbac) și rasa Langsham (penaj negru).

(1962), numărul genelor plasate pe cromozomul X care se moștenesc împreună cu acesta este de 58, în timp ce pentru alte 21 de gene nu există încă cercetări suficiente. Una dintre cele mai răspîndite maladii ereditare provocate de prezența unei gene recesive de pe cromozomul X este daltonismul, care se manifestă la 5—9% bărbați și 0,5% femei.

*Studiul transmiterii ereditare a unor gene plasate pe cromozomul X a arătat că la Drosophila melanogaster și la mamifere, inclusiv omul, masculii transmit acest caracter la fiice și niciodată la fii. La păsări însă, femelele care sînt heterogametice, transmit cromozomul X, împreună cu genele plasate în el, la descendenții masculi și niciodată la femele.*

Descoperirea mecanismului cromozomial al determinării sexelor a dat o explicație satisfăcătoare și unui alt fenomen : *transmiterea ereditară a unor caractere limitate la un sex (sex-limited).* Un exemplu în acest sens îl constituie moștenirea coarnelor la ovine. După cum se știe,

la rasa Dorset ambele sexe au coarne, ale masculilor fiind ceva mai mari și mai răsucite. Prin încrucișarea rasei Dorset, la care prezența coarnelor este determinată de gena $H^1$, cu o rasă fără coarne, de pildă Suffolk, la care absența coarnelor este determinată de gena alelă $H$, se obține prima generație heterozigotă ($H^1H$) la care masculii au coarne, iar femelele n-au. Dacă se încrucișează animalele heterozigote din $F_1$ în $F_2$ se produce o segregare mendeliană astfel : 25% $H^1$ $H^1$ + 50% $H^1H$ + 25% $H$ $H$. În ceea ce privește repartiția pe sexe, 75% dintre masculi vor avea coarne (25% $H^1$ $H^1$ + 50% $H^1$ $H$) și 25% vor fi fără coarne (25% $H$ $H$), iar femelele vor fi 75% fără coarne (50% $H^1$ $H$ + 25% $H$ $H$) și 25% cu coarne (25% $H^1$ $H^1$). Pe această bază s-a tras concluzia că gena pentru prezența coarnelor ($H^1$) este dominantă la masculi și recesivă la femele, caracterul respectiv manifestîndu-se fenotipic preponderent la masculi.

Un alt exemplu de ereditate a unui caracter limitat la un sex (sex-limited) a fost remarcat la fluturele *Colias philodice*, la care masculii sînt exclusiv galbeni, iar femelele sînt albe și galbene. Culoarea albă la femele este determinată de prezența genei dominante $W$, iar cea galbenă de gena recesivă $w$. Aceasta înseamnă că femelele albe pot fi homozigote ($W$ $W$) sau heterozigote ($W$ $w$), iar cele galbene sînt exclusiv homozigote ($w$ $w$).

Pentru a determina genotipul masculilor, se fac încrucișări între femele galbene homozigote ($w$ $w$) cu diferiți masculi și se studiază descendența de sex feminin, în felul următor :

| Genitori ♀ | Genitori ♂ | Femele din $F_1$ |
|---|---|---|
| galbenă ($w$ $w$) | galben ($W$ $W$) | albe ($W$ $w$) |
| galbenă ($w$ $w$) | galben ($W$ $w$) | albe ($W$ $w$) |
| | | galbene ($w$ $w$) |
| galbenă ($w$ $w$) | galben ($w$ $w$) | galbene ($w$ $w$) |

Din datele tabelului reiese că și masculii pot fi în ce privește genotipul de trei feluri : $W$ $W$, $W$ $w$, $w$ $w$, ca și femelele. Se poate deci conchide că gena dominantă $W$ determină prezența culorii albe numai la femele, în timp ce la masculi ea este recesivă. Se pare că pentru manifestarea culorii albe sînt necesari hormonii sexuali femeli.

Fenomenul de sex-limited a fost studiat și la om. După cum se știe *pleșuvia* este un caracter ereditar provocat de prezența unei gene dominante $B$ și se manifestă numai la bărbați. Ca urmare, indivizii masculi cu genotipul $B$ $B$ *și* $B$ $b$ manifestă pleșuvie, iar cei cu $b$ $b$ sînt normali. Indivizii femeli nu manifestă decît în cazuri foarte rare fenomenul

pleșuviei. Cauza pentru care acest caracter se manifestă numai la bărbați o constituie faptul că gena *B* devine activă numai în prezența hormonilor sexuali masculi secretați de cortexul adrenal. S-a constatat însă că prin dereglarea activității cortexului la femei, de pildă prin apariția unei tumori, este posibilă apariția pleșuviei și la femeie, paralel cu unele manifestări de caractere sexuale mascule, ca îngroșarea vocii, creșterea bărbii și mustăților etc. O dată cu extirparea tumorii respective și dispariția caracterelor sexuale mascule, datorită funcționării normale a cortexului, dispare și fenomenul pleșuviei.

Tot la om au mai fost identificate unele gene localizate pe cromozomul Y și care nu se moștenesc decît pe linie bărbătească la care este prezent cromozomul respectiv. Fenomenul respectiv a primit denumirea de *ereditate holandrică* și se transmite de la tată la băieți și nepoți.

În sfîrșit trebuie amintite și *genele letale, dominante și recesive, care se transmit la descendenți legate de cromozomii sexuali.* Gene letale recesive, care sînt bineînțeles mai numeroase decît cele dominante și se transmit în acest fel, au fost identificate la *Drosophila melanogaster,* la mamifere, la păsări etc. Aceste gene sînt relativ ușor de pus în evidență prin studiul descendenței la care apar modificări ale raportului dintre sexe. De pildă, dacă gena letală recesivă este plasată pe cromozomul X, aceasta înseamnă că la sexul heterogametic jumătate din descendență va pieri, astfel că raportul dintre sexe devine 2 : 1 (sexul homogametic, sexul heterogametic). Un exemplu la *Drosophila melanogaster* îl constituie gena letală recesivă plasată pe cromozomul X care determină caracterul de aripi crestate. Femelele pot fi purtătoare ale acestor gene în stare heterozigotă, însă la descendența unor astfel de femele se modifică raportul normal al sexelor din 1 : 1 la 2♀ 1♂ datorită faptului că jumătate din masculi mor înainte de ecloziune, deoarece primesc cromozomul X cu gena letală hemizigotă de la mamă.

★

Analizînd în ansamblu problema sexelor, se poate conchide că determinismul sexual are un caracter complex, în acest proces intervenind cromozomii sexului, autozomii, citoplasma, hormonii, mediul ambiant etc. De asemenea, trebuie ținut seama de faptul că sexele au apărut în cursul evoluției și că în funcție de gradul de evoluție al diferitelor specii determinismul genetic al sexelor se manifestă foarte variat. Astfel în timp ce la speciile mai puțin evoluate, sexele manifestă o mare labilitate, ele fiind puternic influențate de o seamă de factori interni și externi, pe o treaptă mai avansată a evoluției, sexele capătă o mare stabilitate și determinismul cromozomial dobîndește o pondere tot mai mare. Aceasta demonstrează în mod concludent că însuși aparatul cromozomial s-a perfecționat în cursul evoluției, dobîndind o însemnătate tot mai mare nu numai în procesul de înregistrare, conservare și transmitere a informației ereditare a diferitelor caractere ale organismelor, dar el asigură cu o mare fidelitate însăși moștenirea sexelor și a raportului dintre sexe, fapt de mare importanță biologică.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL VII

# EREDITATEA NECROMOZOMIALĂ

Descoperirea mecanismului cromozomial a însemnat un important pas înainte în studiul fenomenului ereditar și pe această bază s-a putut da un răspuns satisfăcător la multe probleme importante privind dominanța și recesivitatea, raportul de segregare, transmiterea înlănțuită a unor caractere, recombinarea genetică, determinismul genetic al sexelor etc. Cu toate acestea s-a constatat că unele fenomene, cum sînt : ereditatea tipului de plastide la plante, influența maternă la hibridarea reciprocă, androsterilitatea la plante etc., nu pot fi explicate exclusiv cu ajutorul mecanismului cromozomial. Numeroase cercetări privind astfel de fenomene, dintre care unele au fost observate încă în primii ani după apariția geneticii ca știință, au dus la descoperirea eredității necromozomiale, al cărei mecanism este în prezent tot mai bine cunoscut. Desigur că între ereditatea cromozomială și cea necromozomială nu poate fi pus un semn de egalitate, deoarece mecanismul cromozomial apărut în urma unui îndelungat proces de evoluție este cel care asigură în primul rînd autoreproducerea materiei vii cu o înaltă fidelitate. Mecanismul necromozomial al eredității constituie o completare a celui cromozomial, el fiind situat la nivelul citoplasmei sau al interacțiunii nucleu-citoplasmă.

## EREDITATEA TIPULUI DE PLASTIDE LA PLANTE

Încă în anul 1902 botansitul german C. Correns a observat la planta *Mirabilis jalapa* (barba împăratului) apariția unor ramuri anormale, pe care frunzele erau gălbui sau pătate, cu porțiuni verzi ce alternau cu porțiuni gălbui pe care le-a denumit *albomaculatus*. Studiind la microscop aceste frunze, a constatat că în celulele respective lipsesc cloroplastele cu

Scanned with OKEN Scanner

pigment verde. După aceea el a făcut polenizări între florile de pe ramurile normale și cele anormale, obținînd rezultatele din tabelul de mai jos :

| Ramura cu flori tată (♂) | Ramura cu flori mamă (♀) | Prima generație |
|---|---|---|
| frunze verzi | verde | verde |
| | galben | galben |
| | pătat | verde, galben, pătat |
| frunze galbene | verde | verde |
| | galben | galben |
| | pătat | verde, galben, pătat |
| frunze pătate | verde | verde |
| | galben | galben |
| | pătat | verde, galben, pătat |

Se poate observa cu ușurință că descendenții semănau cu forma maternă și numai în cazul florilor materne de pe ramurile cu frunzele pătate se producea o segregare (cu apariția plantelor normale și plantelor anormale). Această segregare se datora faptului că frunzele pătate conțineau atît celule cu cloroplaste cît și celule în care lipseau cloroplastele. Desigur că plantele care erau în totalitate galbene nu puteau realiza fotosinteza datorită absenței clorofilei și ca urmare piereau foarte tinere.

Cum se explică faptul că descendenții moșteneau întotdeauna tipul matern și nu erau influențați de polenul patern ? Cloroplastele se găsesc exclusiv în citoplasmă și ele sînt capabile să se autoreproducă relativ independent de alte componente ale celulei. În procesul fecundării, în sacul embrionar matern se află primordiile cloroplastelor în citoplasma oosferei, în timp ce grăunciorii de polen sînt mult mai mici și lipsiți aproape complet de citoplasmă și respectiv de primordii de cloroplaste. Ca urmare celula-ou sau zigotul moștenește tipul de cloroplaste al mamei și se dezvoltă deci din acest punct de vedere asemănător cu mama. Toate cloroplastele din noua plantă provin prin reproducerea primordiilor cloroplastelor moștenite de la forma maternă. Unele cercetări mai noi par să

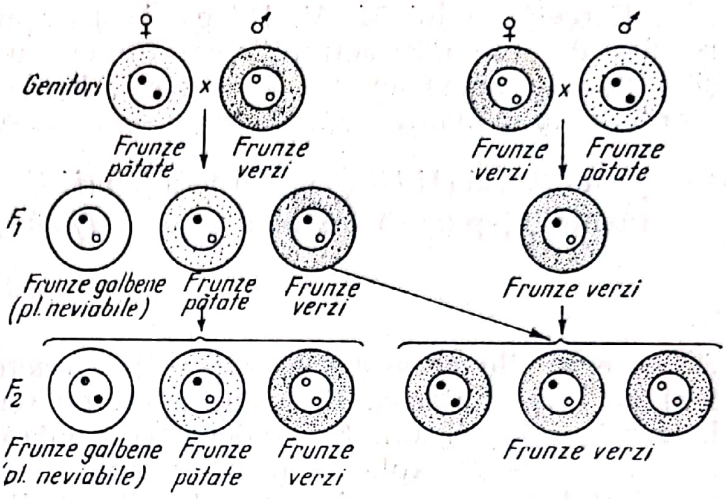



Fig. 76. Ereditatea tipului de plastide la încrucișarea reciprocă între plante normale cu frunze verzi și plante cu frunze pătate.

arate că primordiile cloroplastelor provin din mitocondrii, în care are loc același tip de activitate enzimatică ca și în cloroplaste.

Ulterior cercetări asemănătoare celor ale lui C. Correns au fost făcute la mai mult de 20 de genuri de plante și în toate cazurile s-au obținut rezultate identice. *Sistemul de transmitere ereditară a tipului de plastide prin intermediul primordiilor lor aflate în citoplasma oosferei a primit denumirea de plastom sau plastidom.*

În felul acesta s-a ajuns la concluzia că unele caractere au o determinare genetică citoplasmatică, fiind condiționate de prezența în citoplasmă a unor gene denumite *plasmagene*, spre deosebire de genele cromozomiale sau *cromogene.*

## INFLUENȚA MATERNĂ LA HIBRIDAREA RECIPROCĂ

Există însă unele fenomene ereditare care nu pot fi explicate decît datorită *interacțiunii unor cromogene și plasmagene.* Cercetări interesante în această direcție au fost efectuate de M. M. Rhoades (1946). El a studiat la porumb modul cum se transmite ereditar caracterul „iojap" la plante, fenomen care constă în prezența unor benzi alternante verzi și albe pe frunze. Denumirea de iojap provine din reunirea primei silabe de la statul Iowa din S.U.A., unde a fost descoperit prima oară fenomenul, cu prima silabă de la cuvîntul japonica, o mutantă la porumb ce determină un tip similar de vărgare a frunzelor. Mutanta japonica este recesivă (*j j*), astfel că din încrucișarea sa cu plante normale verzi (*J J*) prima generație heterozigotă este exclusiv verde (*J j*), iar în generația a doua se obține o segregare mendeliană 3 verde : 1 vărgat. Este deci vorba de o cromogenă.

Cercetările lui M. M. Rhoades au arătat că mutanta iojap este rezultatul combinării acțiunii unei cromogene plasate pe cromozomul VII și a unei plasmagene din citoplasmă. Prin încrucișarea reciprocă între plante iojap și plante normale verzi se obțin rezultate diferite :

plante verzi *(Ij Ij)* ♀ x plante iojap *(ij ij)* ♂ = plante verzi *(Ij ij)*

plante iojap *(ij ij)* ♀ x plante verzi *(Ij Ij)* ♂ = plante verzi *(Ij ij)*
plante iojap *(Ij ij)*
plante albinotice *(Ij ij)*

Se observă din această încrucișare că caracterul iojap se transmite numai pe linie maternă. Este interesant de remarcat segregarea plantelor heterozigote *(Ij ij)* din $F_1$ (cînd mutanta iojap era forma maternă), segregare ce poate fi explicată prin prezența în plantele iojap a două tipuri de plastide : normale și anormale, distribuite pe bază de probabilitate. Dintr-un ovul numai cu plastide normale vor rezulta plante verzi, din tr-un ovul numai cu plastide anormale vor rezulta plante albinotice (caracter letal), iar din ovulele ce au atît plastidele normale cît și anormale rezultă plante iojap.

Dacă mai departe se încrucișează plante heterozigote iojap din $F_1$ cu plante normale verzi se obțin următoarele tipuri de plante :

plante iojap *(Ij ij)* ♀ x plante verzi *(Ij Ij)* ♂ = plante verzi *(Ij ij* sau *Ij ij)*
plante iojap *(Ij Ij* sau *Ij ij)*
plante albinotice *(Ij Ij* sau *Ij ij)*

Din aceste cercetări rezultă că plantele iojap pot avea următoarea constituție genotipică : *ij ij, Ij ij, Ij Ij*. Pentru a explica acest fenomen, M. M. Rhoades consideră că gena *ij* de pe cromozomul 7 determină apariția plastidelor anormale, care după aceea se pot transmite la descendenți pe linie maternă prin intermediul citoplasmei oosferei, indiferent de constituția genotipică a indivizilor respectivi. Este deci vorba de un *fenomen de interacțiune nucleo-citoplasmatică în determinarea tipului de plastide al plantelor*.

Influența maternă manifestată la hibrizii reciproci prin intermediul citoplasmei oosferei, a fost pusă în evidență și la alte specii de plante. Astfel, botanistul german F. Wettstein a încrucișat reciporc două specii de mușchi *Funaria hygrometrica* și *F. mediterranea,* care se deosebesc considerabil prin forma și mărimea frunzelor, tipul organelor de reproducere etc. Studiul hibrizilor reciproci a arătat că ei seamănă cu genitorul matern într-o măsură mult mai mare decît cu cel patern. Ulterior specii din genul *Funaria* au fost încrucișate reciproc cu specii din alt gen *(Physcomitrium)*, constatîndu-se că hibrizii erau aproape identici cu planta maternă.

Scanned with OKEN Scanner

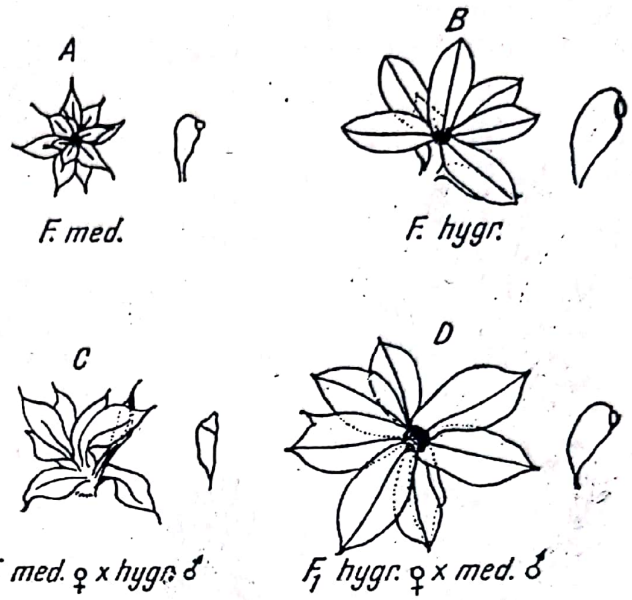



Fig. 77. Hibridarea reciprocă între *Funaria mediterranea* și *F. hygrometrica.*

Un deosebit interes îl prezintă experiențele lui P. Michaelis (1954), care a încrucișat reciproc plantele *Epilobium hirsutum* x *E. luteum.* Cînd *E. hirsutum* era formă maternă, hibridul avea flori foarte mici și era aproape steril, în timp ce cînd specia *E. luteum* era mamă, hibridul avea flori mari și era fertil. Între hibrizii reciproci existau, de asemenea, deosebiri însemnate în ceea ce privește mărimea plantelor.

P. Michaelis a continuat experiențele în felul următor : hibridul *E. luteum* ♀ × *E. hirsutum* ♂ a fost retroîncrucișat (backcross) cu specia *E. hirsutum* ca tată, în cursul a 24 de generații succesive. În acest fel se reducea în fiecare generație contribuția lui *E. luteum* la formarea nucleului descendenței și creștea corespunzător cea a speciei *E. hirsutum.* În generația 25 *($F_{25}$)* s-a obținut pe această cale un tip de plante la care citoplasma era de tip matern *(E. luteum),* iar constituția nucleară de tip patern *(E. hirsutum),* realizîndu-se un veritabil transfer al nucleului de la o specie în citoplasma alteia. Acest hibrid din generația 25 a fost încrucișat reciproc cu specia *E. hirsutum,* constatîndu-se deosebiri importante între hibrizii reciproci, ca și cum s-ar fi încrucișat între ele speciile *E. luteum* cu *E. hirsutum.* În felul acesta s-a dovedit că unele caractere se pot transmite ereditar cu ajutorul citoplasmei materne un număr de 25 de generații.

Cercetări recente au dovedit că fenomenul de ereditate citoplasmatică este destul de frecvent la ciuperci. De exemplu, M. B. Mitchell și H. K. Mitchell (1952) au arătat că la *Neurospora crassa* există o mutantă spontană care a fost denumită *poky* și care se caracterizează printr-o creștere mai redusă față de tipul sălbatic. Aceasta se datorește deficienței cîtorva enzime respiratoare extrem de importante

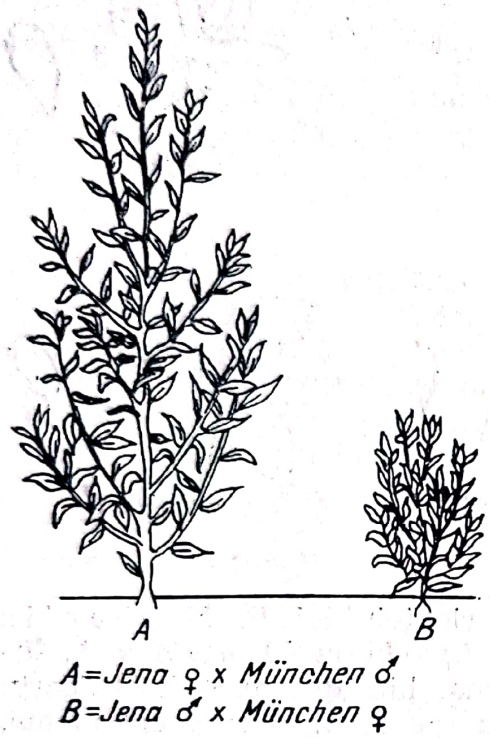



Fig. 78. Hibrizii reciproci între două specii de *Epilobium* (după Wagner și Mitchell, 1955).

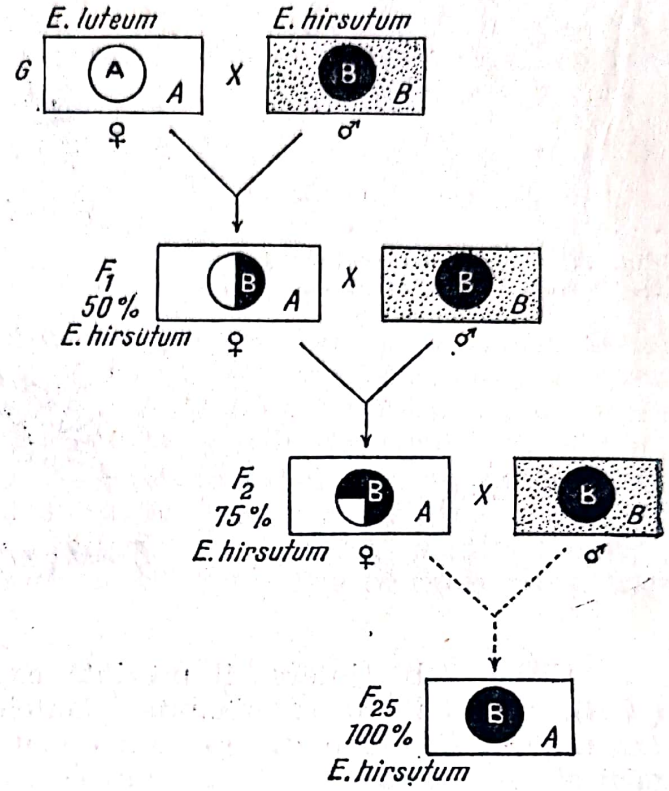



Fig. 79. Transferul nucleului de *E. hirsutum* în citoplasma de la *E. luteum* prin retro-încrucișări (backcross) succesive.

citocromul *a* și *b*), a căror absență a fost evidențiată la mutanta *poky* prin lipsa benzilor de absorbție caracteristice din spectru. În urma unor încrucișări reciproce între tipul sălbatic de *Neurospora crassa* și mutanta *poky* s-a observat că deficiența enzimatică specifică mutantei a fost transmisă în descendență numai atunci cînd mutanta *poky* a servit drept genitor matern, adică atunci cînd a participat la formarea heterocarionului cu protoperiteciul, care conține citoplasmă extrem de abundentă comparativ cu conidiile.

Fenomene similare s-au evidențiat și la alte specii de ciuperci care formează obiecte curente și studiu în genetica actuală. De exemplu mutanta *petite* de *Saccharomyces cerevisiae* (drojdie de bere) care prezintă, de asemenea, deficiențe respiratorii, fiind incapabilă să utilizeze oxigenul și are un metabolism anaerob chiar în condiții de aerobioză, manifestă o formă citoplasmatică de transmitere ereditară (B. Ephrussi și colab. 1949, 1953, 1955). În mod similar mutanta de tip *alba* de *Aspergillus nidulans*, caracterizată prin incapacitatea producerii pigmentației brun-roșiatice specifice formei normale, transmite caracterul alba la descendenți tot pe cale citoplasmatică (Wilkie și Mahoney, 1962).

La ciuperci s-au obţinut artificial mai multe mutante care se pot transmite pe cale citoplasmatică, prin utilizarea diverşilor factori mutageni. Iată cîteva dintre acestea :

| Specii | Factorii mutageni | Caracterul citoplasmatic ereditar indus |
|---|---|---|
| *Saccharomyces cerevisiae* | acriflavină | petite |
| *Saccharomyces cerevisiae* | temperatură crescută | petite |
| *Saccharomyces cerevisiae* | iradiere cu U V | petite |
| *Aspergillus nidulans* | acriflavină | minute |
| *Aspergillus nidulans* | iradiere cu U V | red (roşu) |
| *Aspergillus glaucus* | iradiere cu U V | compact |
| *Neurospora crassa* | acriflavină | S.G. (creştere înceată) |

Deosebiri importante între hibrizii reciproci datorită influenţei materne au fost remarcate şi la animale. De multă vreme s-a constatat, de pildă, că hibrizii reciproci dintre cal (*Equus caballus*, 2 $n$ = 64) şi asin (*E. asinus*, 2 $n$ = 62) sînt foarte deosebiţi. Astfel din încrucişarea unei iepe cu un asin se obţine catîrul (*E. mullus*, 2 $n$ = 63), iar din încrucişarea unei măgăriţe cu un armăsar se obţine bardoul (*E. hinnus*, 2 $n$ = 63), hibrizi care sînt foarte deosebiţi între ei în ce priveşte mărimea, culoarea, puterea de muncă etc., deşi ambii au 2 $n$ = 63 cromozomi. Metoda hibridării reciproce (A ♀ × B ♂ şi B ♀ × A ♂ ) se aplică în prezent pe scară largă în creşterea animalelor, deoarece s-a constatat că între metişii sau hibrizii reciproci există pe lîngă unele deosebiri de ordin genetic şi diferenţe considerabile în ce priveşte intensitatea heterozisului în funcţie de rasa sau specia maternă, fenomen de mare importanţă practică.

O experienţă foarte interesantă prin care s-a pus în evidenţă influenţa maternă la hibridarea reciprocă s-a făcut la melcul de apă *Limnaea peregra*. În cadrul acestei specii există două tipuri de indivizi : unul care are cochilia răsucită spre dreapta (dextral), caracter dominant (*D D*), şi altul care are cochilia răsucită spre stînga (senestral), caracter recesiv (*d d*). Hibrizii reciproci (*D d*) din $F_1$ între aceste tipuri nu manifestă caracterul dominant, ci sînt întotdeauna de tip matern, iar în $F_2$ toţi descendenţii sînt de tip dextral, deşi genetic ei sînt diferiţi : *D D*, *D d* şi *d d*. Aceasta înseamnă că tipul de răsucire al cochiliei nu este determinat de genele proprii, ci de genele materne din $F_1$ (*D d*). De abia în $F_3$ se produce o segregare în raport de 3 dextral : 1 senestral, în care gena recesivă homozigotă (*d d*) din $F_2$ se manifestă. Trebuie menţionat că această specie de melc este hermafrodită şi că ea se poate

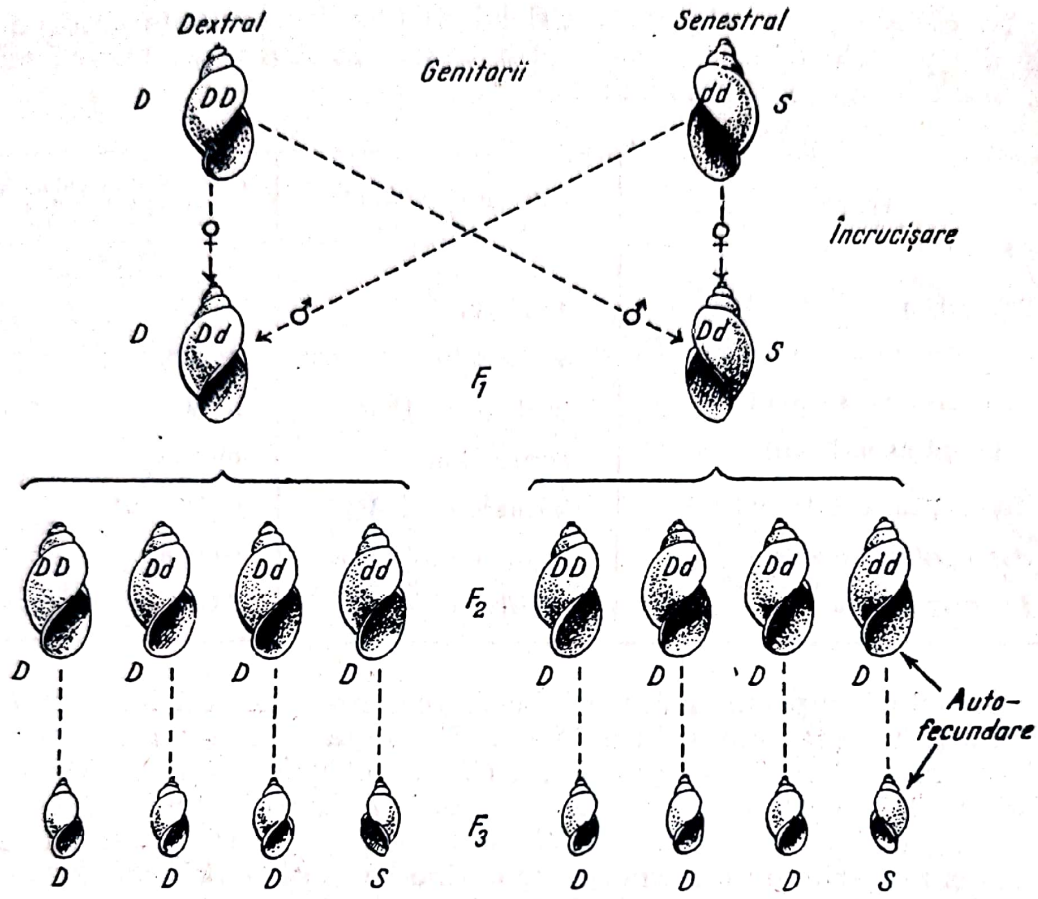



Fig. 80. Încrucișarea reciprocă între tipul dextral și senestral de *Limnaea peregra.*

reproduce atît prin fecundare încrucișată cît și prin autofecundare. În această experiență, generațiile $F_2$ și $F_3$ s-au produs prin autofecundare, numai $F_1$ fiind produsă prin hibridare reciprocă.

Studiul citologic al fenomenului de răsucire al cochiliei arată că direcția răsucirii cochiliei este determinată la a doua diviziune celulară de direcția fibrelor fusului nuclear (de la stînga la dreapta sau de la dreapta la stînga). *Direcția răsucirii cochiliei este determinată nu de genele proprii ale zigotului, ci de genele materne, care influențează astfel tipul de asimetrie încă din cursul primelor diviziuni celulare.*

Cum se explică faptul că hibrizii reciproci la plante și animale sînt atît de diferiți între ei ?

În primul rînd trebuie arătat că celulele sexuale femele — ovulele și oosferele — sînt prevăzute cu o cantitate mare de citoplasmă, iar cele mascule — spermatozoizii la animale și nucleii spermatici la plante — sînt mult mai mici și aproape complet lipsite de citoplasmă. Prin citoplasmă pot fi transmise ereditar o seamă de caractere și însușiri de-a lungul generațiilor.

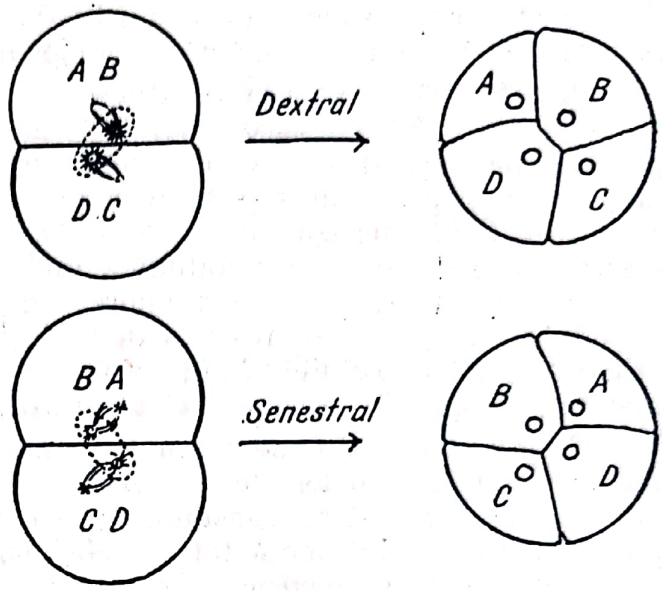



Fig. 81 Determinarea tipului de răsucire a cochiliei la *Limnaea peregra* se realizează la primele diviziuni celulare ale zigotului.

În al doilea rînd, la animalele superioare, la mamifere de pildă, genotipul matern poate influența dezvoltarea hibridului în cursul vieții intrauterine. Astfel foetusul de catîr se dezvoltă în uterul de iapă, în timp ce foetusul de bardou se dezvoltă în uterul de măgăriță. La plantele superioare după ce are loc fecundarea, zigotul începe să se dividă și dă naștere embrionului cînd se află încă pe organismul matern. De asemenea, trebuie ținut seama că endospermul, în care se află substanțele nutritive de rezervă ale embrionului, este format din celule triploide (3 *n*) în care două garnituri de cromozomi (2 *n*) sînt de origine maternă și numai o garnitură de cromozomi (*n*) sînt de origine paternă. În acest fel, influența endospermului este mai puternică pe linie maternă.

## FENOMENUL MEROGONIEI

Un alt exemplu interesant de ereditate necromozomială îl constituie *fenomenul merogoniei,* prin care se înțelege obținerea unor hibrizi prin fecundarea unei ovule fără nucleu cu un spermatozoid normal, hibrizi care manifestă multe caractere materne.

Încă la sfîrșitul secolului trecut T. Boveri (1899) a făcut următoarea experiență : a luat ovule de arici de mare pe care le-a centrifugat puternic încît membrana celulară a fost ruptă, iar nucleul a fost îndepărtat. Aceste ovule enucleate au fost fecundate cu spermatozoizi de la crinul de mare, obținînd larve haploide, care nu aveau decît o garnitură de cromozomi provenită de la nucleul patern (care însă se afla în citoplasma maternă). Larvele haploide nu erau de tip exclusiv patern,

deşi cromozomii proveneau exclusiv de la forma tată, ci prezentau şi caractere materne transmise prin citoplasmă.

După aceste experienţe clasice, cercetările privind fenomenul merogoniei s-au dezvoltat considerabil mai ales datorită unor tehnici superioare de îndepărtare sau distrugere a nucleului ovulei. Astfel nucleul poate fi extirpat prin aspirarea sa cu ajutorul unei pipete foarte fine sau poate fi distrus prin iradiere cu raze X sau gamma. Această ultimă metodă se bazează pe sensibilitatea mult mai mare a nucleului, comparativ cu citoplasma, faţă de iradiere. De asemenea, nucleul poate fi distrus prin folosirea unui fascicul de radiaţii alfa care sînt îndreptate asupra nucleului, restul celulei fiind protejată cu un microecran protector, mai ales la speciile la care nucleul are o poziţie excentrică.

Folosind o astfel de tehnică, I. Danielli şi colaboratorii (1957) au transplantat nuclei de la *Amoeba proteus* în citoplasma speciei *Amoeba discoides* şi au constatat la şase ani de la transplantare că citoplasma a avut o influenţă tot atît de mare ca a nucleului în transmiterea caracterelor şi însuşirilor ereditare. De asemenea, s-a constatat că nucleii de *Amoeba proteus,* după o îndelungată influenţă din partea citoplasmei de la *Amoeba discoides,* s-au modificat considerabil, devenind asemănători cu nucleii acestei din urmă specii.

Mult interes prezintă cercetările geneticianului elveţian E. Hadorn (1955), care a fecundat ovule enucleate de *Triton palmatus* cu spermatozoizi de la specia *Triton cristatus.* Între aceste două specii există deosebiri importante în ceea ce priveşte culoarea şi aspectul epidermei. Embrionii haploizi (cu un număr de cromozomi redus la jumătate, care proveneau numai de la forma paternă) nu se puteau dezvolta decît pînă la faza de blastulă şi apoi piereau. Înainte de această fază, o porţiune din epiderma embrionilor era transplantată pe larve normale ale unei a treia specii *Triton alpestris.* S-a constatat că la maturitatea animalelor epiderma transplantată semăna mult mai bine cu cea a speciei. *T. palmatus,* care nu contribuise la formarea embrionului decît cu citoplasma ovulei.

Toate aceste cercetări arată în mod direct că există un mecanism ereditar necromozomial, situat la nivelul citoplasmei.

## ANDROSTERILITATEA CITOPLASMATICĂ ŞI NUCLEO-CITOPLASMATICĂ

Fenomenul androsterilităţii citoplasmatice a fost descoperit pentru prima oară în 1904 de C. Correns la planta *Satureja hortensis.* Ulterior fenomenul androsterilităţii ereditare a fost remarcat la mai multe specii de plante : ceapă, porumb, in, sorg, iarbă de Sudan, sfeclă de zahăr, grîu etc. Studiul acestor plante a arătat că de fapt este vorba de 3 tipuri

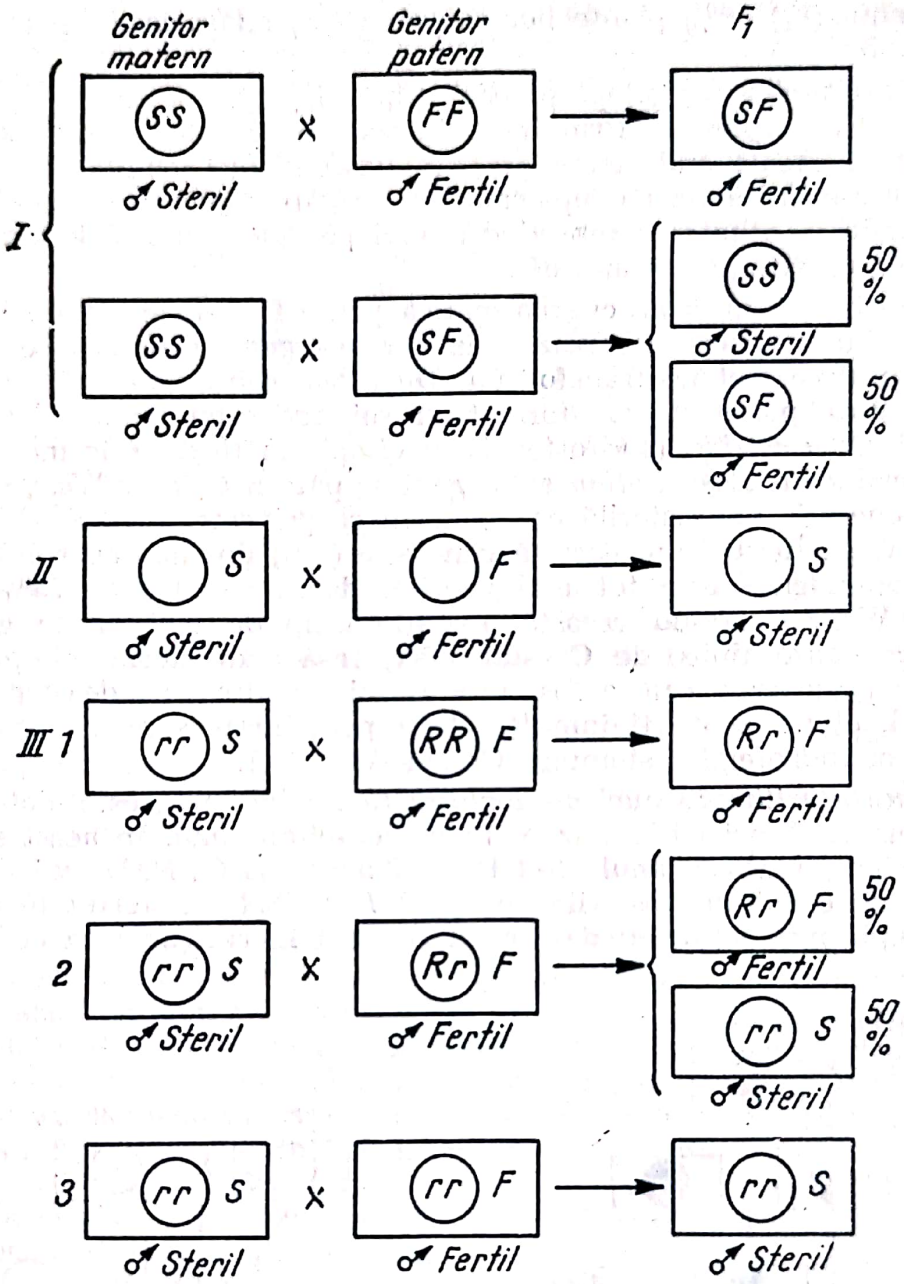



Fig. 82. Cele 3 tipuri de androsterilitate : nucleară (I), citoplasmatică (II) și nucleo-citoplasmatică (III).

de androsterilitate ereditară, și anume : citoplasmatică, nucleo-citoplasmatică și nucleară.

*Androsterilitatea nucleară* (tipul I) este determinată de gene recesive localizate în nucleu *(S S)*. Desigur că aceste plante nu se pot reproduce singure neavînd polen și de aceea pentru a le păstra, ele se încrucișează cu plante androfertile heterozigote (S F), obținîndu-se în

descendența ($F_1$) 50% plante homozigote (*S S*) androsterile și 50% (*S F*) androfertile.

*Androsterilitatea citoplasmatică* (tipul II) este determinată de gene localizate în citoplasmă. Prin încrucișarea acestor plante androsterile (S) cu plante normale androfertile (F), în descendență domină androsterilitatea (*S*) transmisă prin citoplasmă. Ca urmare plantele ce posedă acest tip de androsterilitate se reproduc numai pe cale vegetativă sau prin încrucișarea cu alte plante androfertile.

Sterilitatea masculă citoplasmatică poate fi transferată de la un soi la altul prin încrucișări repetate, în care ca genitor patern se folosește mereu soiul ce trebuie transformat. De pildă, soiul de ceapă androfertil *Crystal Wax* poate fi transformat în soi androsteril prin încrucișarea cu soiul *Roșu italian* (androsterilitate citoplasmatică). Folosind ca genitor matern soiul *Roșu italian* și ca genitor patern *Crystal Wax,* se obține prima generație androsterilă care este în ce privește nucleul 50% de tip Crystal Wax. Încrucișînd această generație ( ♀ ) din nou cu soiul Crystal Wax descendența este tot androsterilă, dar nucleul este 75% de tip Crystal Wax. Repetînd această operație timp de mai multe generații, se obțin plante tipice de Crystal Wax, însă androsterile citoplasmatic. După ce pe această cale a fost produs soiul androsteril de ceapă Crystal Wax S-1, el nu poate fi înmulțit decît prin încrucișarea cu plante din același soi androfertile, și anume Crystal-Wax N-1.

*Androsterilitatea nucleo-citoplasmatică (tipul III),* este determinată de factori ereditari cu localizare în nucleu-citoplasmă. În acest sens trebuie arătat că încă în anul 1944 H. A. Jones și G. N. Davis studiind plantele de ceapă androsterile din soiul *Roșu italian,* sterilitate determinată citoplasmatic (S), au descoperit că prin încrucișarea sa cu anumite

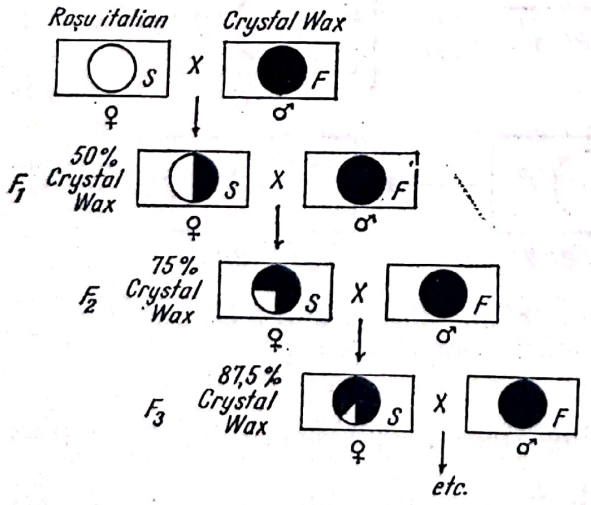



Fig. 83. Transferul androsterilității citoplasmatice de la soiul de ceapă Roșu italian la soiul Cristal Wax prin retroîncrucișări (backcross) succesive.

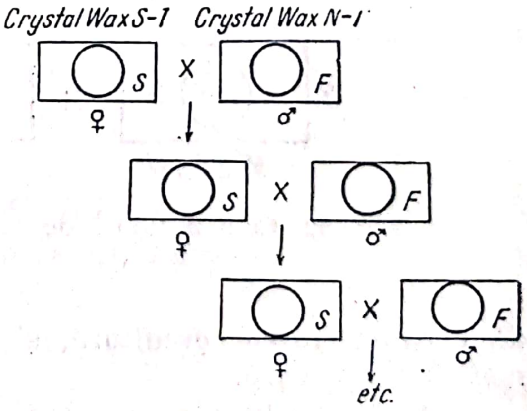



Fig. 84. Păstrarea androsterilității citoplasmatice prin încrucișarea soiului androsteril Cristal Wax S-1 cu omologul său androfertil N-1.

soiuri se obține în mod excepțional o descendență androfertilă, capacitatea de a restaura fertilitatea fiind determinată de o genă dominantă R, localizată în nucleu. Descendența ($F_1$) este deci androfertilă (F) și heterozigotă privind capacitatea de a restaura fertilitatea polenului (R r).

Prin încrucișarea plantelor androsterile ca genitor matern cu plante androfertile (F) heterozigote (R *r*) se obține o descendență care în $F_1$ este 50% androfertilă (F, *R r*) și 50% androsterilă homozigotă (S, *r r*). În acest fel, tipul respectiv de androsterilitate poate fi păstrat la descendenți.

În sfîrșit, dacă se încrucișează plante androsterile (S, *r r*) cu plante androfertile, dar care n-au capacitatea de a restaura fertilitatea polenului (F *r r*), se obține în $F_1$ o descendență androsterilă și homozigotă (*S, r r*) deoarece, așa cum s-a arătat mai sus, androsterilitatea determinată de factori din nucleu se transmite ca un caracter recesiv. Acest tip aparține de fapt androsterilității citoplasmatice.

Androsterilitatea nucleară nu prezintă decît o importanță practică foarte redusă, deoarece se manifestă în special la plante autogame, cum sînt tomatele, orzul etc. La aceste plante nu există decît puțin polen în aer în perioada înfloritului, astfel că procentul de plante ce rămîn sterile este foarte mare.

Androsterilitatea citoplasmatică deși se transmite dominant la descendenți, nu prezintă importanță practică decît pentru unele plante ornamentale, la care androsterilitatea este corelată cu o înflorire mai îndelungată și cu păstrarea florilor proaspete mai mult timp sau la plantele folosite pentru organele lor vegetative. Pe de altă parte, reproducerea plantelor androsterile citoplasmatice este foarte dificilă, așa cum s-a arătat mai sus, încît din punct de vedere economic este neavantajoasă.

Cel de-al treilea tip de androsterilitate nucleo-citoplasmatică este folosit pe larg în producerea de semințe hibride la porumb, sorg și alte plante, avînd o deosebită importanță economică. Aceasta deoarece la porumb, de pildă, unde în multe țări printre care și țara noastră nu se cultivă decît hibrizi între linii consangvinizate, este nevoie ca liniile consangvinizate genitoare să se semene în rînduri alterne, iar plantele materne să fie castrate înainte de înflorire astfel ca ele să se polenizeze exclusiv cu polen de la genitorul patern. Operația castrării este însă relativ dificilă și nu se poate efectua decît manual. De aceea folosirea ca genitor matern a unor linii și hibrizi simpli androsterili face ca operația castrării să nu mai fie necesară, fapt care aduce economii importante de muncă manuală. Pentru obținerea unui hibrid dublu de porumb prin încrucișarea a doi hibrizi simpli proveniți din patru linii consangvinizate (A x B) x x (C x D), se încrucișează mai întîi linia A androsterilă citoplasmatică (S, *r r*) cu linia B androfertilă, dar care n-are capacitatea de a restaura fertilitatea polenului (F, *r r*), astfel că hibridul simplu A x B va fi androsteril (S, *r r*). Pe de altă parte se încrucișează linia C androsterilă citoplasmatic (*S, r r*) cu linia D androfertilă și care posedă capacitatea de a restaura fertilitatea polenului (F, *R R*), încît hibridul simplu C x D va

fi androfertil și cu o capacitate de a restaura fertilitatea polenului (F, *R r*). În anul următor se încrucișează hibridul simplu A x B androsteril (S, r r) cu hibridul simplu C x D androfertil și capabil de a restaura fertilitatea polenului (F, *R r*), astfel că hibridul obținut va avea 50% polen fertil, ceea ce este suficient pentru cultivarea sa în producție.

De asemenea, trebuie menționat că și la porumb este posibilă, la fel ca la ceapă, transformarea oricărui soi sau a oricărei linii androfertile în corespondentul său androsteril, prin retroîncrucișări (backcross) succesive cu o linie androsterilă. În acest fel, liniile consangvinizate valoroase pot fi transformate în linii androsterile și folosite în procesul producerii de hibrizi dubli la care nu mai este necesară castrarea plantelor.

În prezent se extinde și la alte plante folosirea fenomenului de androsterilitate nucleo-citoplasmatică pentru producerea de hibrizi ce manifestă heterozis. De pildă la sorg, plantă cu flori hermafrodite nu era posibilă pînă acum cîțiva ani obținerea de semințe hibride pe scară industrială. Imediat ce s-au descoperit linii androsterile și restauratoare de fertilitate, s-a trecut la cultivarea pe scară largă a hibrizilor care prezintă heterozis și dau astfel sporuri importante de producție. La sfecla de zahăr pe această cale este posibilă obținerea de plante hibride triploide (3 *n*) prin încrucișarea între forme diploide și tetraploide, dintre care una este androsterilă, fără a se pune problema restaurării fertilității polenului deoarece planta se cultivă pentru rădăcini și nu pentru semințe. În sfîrșit trebuie menționat că se fac cercetări și la alte plante, ca : grîu, floarea soarelui, iarbă de Sudan etc., în vederea folosirii androsterilității pentru obținerea de hibrizi ce manifestă heterozis.

## HIBRIDAREA VEGETATIVĂ

Încă în secolul trecut Ch. Darwin arăta în lucrarea sa *Variația animalelor și a plantelor în stare domestică* posibilitatea modificării eredității la plante prin altoire. El citează cazul hibridului vegetativ *Cytisus Adami,* obținut în anul 1829 de către grădinarul parizian Adami, prin altoirea unui ochi al plantei *Cytisus purpureus,* cu flori roșii, pe planta *Cytisus laburnum,* cu flori galbene. Din locul altoirii au apărut în al doilea an mai mulți lăstari, dintre care unul se deosebea prin frunzele sale mai mari. Acest lăstar a fost înmulțit separat și la înflorire s-a constatat că pe unele ramuri florile sînt de culoare roșie, pe altele galbene și, în sfîrșit, pe altele florile sînt de culoare roșie murdară, așa cum nu existau la nici unul din partenerii altoirii. Hibridul vegetativ *Cytisus Adami* se deosebea de *C. laburnum* și prin alte caractere, ca, de exemplu : mărimea și grosimea frunzelor, grosimea lăstarilor, felul de alcătuire a florilor etc.

Scanned with OKEN Scanner

În America, selecționatorul darwinist *Luther Burbank* (1849—1926) a făcut experiențe numeroase de altoire între diferite specii de solanacee, în special între tomate și cartof. Între partenerii altoirii, L. Burbank a observat o puternică influență reciprocă. Astfel, tomatele altoite pe cartof făceau fructe mult mai mici și de calitate inferioară, iar cartoful care servea de portaltoi s-a modificat în sensul că făcea tubercule mici, de formă neregulată și cu gust amar.

Analizînd modificările survenite la tuberculele de cartof sub influența sistemului foliar de tomate, L. Burbank scria : „În general protoplasma rădăcinii asimilează fără îndoială toată hrana dirijată către ea și o transformă în protoplasmă proprie. Noi cunoaștem însă faptul că, din punct de vedere calitativ, carnea animalelor se modifică în raport cu nutrețul ce li se administrează, de aceea, nu avem nici un motiv să ne îndoim de faptul că la fel și protoplasma plantei se poate schimba în raport cu nutriția *".

Botanistul francez *L. Daniel* (1856—1940) a lucrat aproape 50 de ani la obținerea de hibrizi vegetativi între diferite specii de plante. Un interes deosebit îl prezintă hibrizii vegetativi obținuți de el între floarea soarelui *(Helianthus annuus)* și topinambur *(H. tuberosus)*. El a reușit astfel să obțină plante de topinambur fertile, deși timp de 400 de ani, de cînd cultura acestei plante era cunoscută în Franța, topinamburul nu dăduse semințe, precum și plante de floarea soarelui cu rădăcini tuberculiforme.

O contribuție importantă la studiul acestei probleme a adus-o botanistul german *Hans Winkler* care a elaborat o tehnică specială de altoire la Solanacee care consta în următoarele : se lua, de pildă, o plantă de pătlăgele roșii *(Solanum lycopersicon)*, căreia i se îndepărtau toți mugurii de la subsuara frunzelor, iar vîrful era retezat, altoindu-se în despicătură un lăstar de zîrnă neagră *(S. nigrum)*. După 10—15 zile, cînd se realiza o sudură completă între componenți, altoiul era tăiat chiar din locul de concreștere cu portaltoiul. În felul acesta, în despicătura portaltoiului rămînea o mică porțiune din altoi, prinsă între țesuturile portaltoiului. Din calusul format în porțiunea de unire dintre altoi și portaltoi se formau lăstari adventivi, din care o parte erau tipici de tomate, o parte erau tipici de zîrnă neagră, iar o parte erau intermediari și pe care i-a denumit *himere*. Ei clasifică aceste himere în 3 categorii, și anume :

— *himere sectoriale*, care iau naștere prin conviețuirea între țesutul propriu al plantei și țesutul străin care ocupă numai un sector ;

— *himere periclinale*, care iau naștere prin înfășurarea țesuturilor unui partener de către țesuturile celuilalt partener ;

— *himere mericlinale*, care sînt reprezentate de forme intermediare între primele două tipuri.

Cele mai importante himere obținute de el au primit denumirea de specii : *Solanum tubingense, S. Koelreuterianum, S. Proteus, S. Gaertne-*

* L. Burbank, *Privivka tomata i kartofelia*, Iarovizația, 1938, nr. 3.

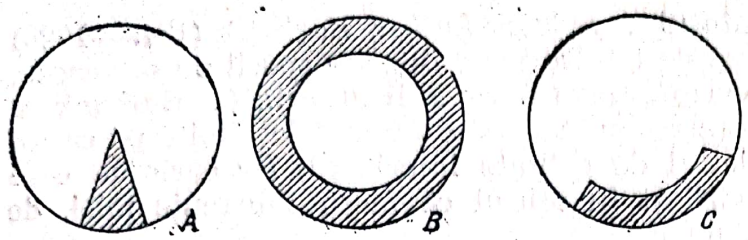



Fig. 85. Himeră sectorială (A), periclinală (B) și mericlinală (C).

*rianum* și *S. Darwinianum*. Himerele nu se pot însă reproduce decît pe cale vegetativă, deoarece celulele sexuale pe care ele le formează sînt de tipul unuia dintre partenerii altoirii, și anume de tipul aceluia din al cărui țesut iau naștere celulele sexuale.

I. V. Miciurin a făcut, de asemenea, numeroase experiențe de altoire la pomii fructiferi, constatînd influența puternică dintre altoi și portaltoi. Un exemplu interesant privind influența portaltoiului sălbatic asupra altoiului este cel al părului din soiul nou Beurré Garnici Garnițki, ai cărui lăstari au fost altoiți în coroana unui portaltoi sălbatic matur, care nu începuse încă să fructifice. În primii doi ani altoii s-au dezvoltat normal, iar în anul al treilea și al patrulea au produs fructe mari, cu un gust foarte bun. Începînd din anul al cincilea, creșterea ramurilor altoi s-a micșorat foarte puternic, iar fructele s-au micșorat cam de patru ori și au căpătat forma obișnuită a perelor semisălbatice. Acest exemplu arată cît de puternic se poate schimba un soi tînăr sub influența portaltoiului sălbatic matur.

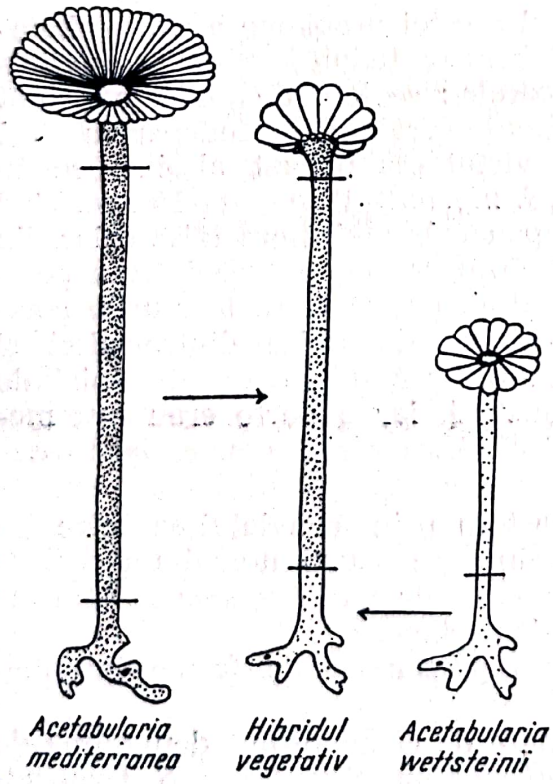



Fig. 86. Hibridul vegetativ dintre *Acetabularia mediterranea* și *A. wettsteinii*.

Pe baza acestor constatări I. V. Miciurin a elaborat *metoda mentorului* și *metoda apropierii vegetative prealabile*, prin care se urmărește modificarea eredității unuia dintre partenerii altoirii pe cale vegetativă. Astfel *mentorul* este o porțiune de plantă care concrescută cu alta prin altoire determină la aceasta din urmă **modificări** ereditare. În ce privește *apropierea vegetativă prealabilă*, ea este o metodă ce se folosește la hibridarea interspecifică, la care în prealabil genitorii se altoiesc unul pe altul, încît devine posibilă încrucișarea sexuală între specii îndepărtate.

Scanned with OKEN Scanner

În prezent există numeroase cercetări la diverse specii de plante care arată posibilitatea modificării eredității la partenerii altoirii, pe o cale necromozomială. Analiza acestor rezultate în lumina cercetărilor actuale de genetică moleculară arată că teoretic este posibilă modificarea eredității prin transferul de material genetic necromozomial de la un partener al altoirii la altul. De altfel, unele cercetări experimentale efectuate de *M. Stroun* (1966) au arătat că prin introducerea de acid dezoxiribonucleic (A D N) în plante, acesta își conservă natura și poate fi regăsit în nucleul celulelor. Cu alte cuvinte se poate emite ipoteza că prin altoire este posibil un transfer de A D N între altoi și portaltoi, mecanism prin care se poate realiza și un transfer de informație genetică, care ulterior se fixează în macromoleculele de A D N cromozomial.

## GENE NECROMOZOMIALE LA ORGANISMELE INFERIOARE

Fenomenul eredității necromozomiale poate fi explicat la plantele și animalele superioare prin aceea că citoplasma zigotului este de origine maternă, știut fiind că numai ovula este prevăzută cu citoplasmă în timp ce gametul mascul este aproape complet lipsit. La organismele inferioare la care în ciclul vital predomină faza haploidă, explicația nu mai este valabilă deoarece în acest caz ambii gameți au citoplasmă.

În scopul lămuririi acestei probleme, *R. Sager* (1965) a ales alga verde *Chlamidomonas*, o fitoflagelată haploidă care are 8 cromozomi și 2 sușe de sex diferit ($mt^+$ și $mt^-$). Prin cultura acestei alge pe un mediu cu streptomicină, *R. Sager* a identificat numeroase mutante rezistente la streptomicină *(sr)*, care apar cu o frecvență de 1/1 000 000 celule. Prin încrucișarea acestor mutante rezistente *(sr)* cu tipul sensibil *(ss)*, s-a constatat că 90% din mutante erau cromozomiale și 10 necromozomiale. Deosebirea dintre ele s-a pus în evidență prin efectuarea de încrucișări reciproce, mutantele necromozomiale transmițînd caracterul respectiv exclusiv pe linie maternă. În acest fel, R. S a g e r a reușit să izoleze un număr de 30 mutante necromozomiale, care afectează alga respectivă aproape identic cu cele cromozomiale.

Studiul mutantelor necromozomiale a arătat că genele manifestă *fenomene de segregare și recombinare* asemănătoare genelor cromozomiale. Astfel, din încrucișarea reciprocă între tipul sensibil (*ss*) și o mutantă necromozomială dependentă de streptomicină (*sd*) s-a constatat moștenirea exclusiv a tipului matern. În cazuri rare (1 : 100), unii zigoți transmit la descendenți nu tipul matern, ci ambele tipuri *ss* și *sd*, astfel că ei pot crește la fel de bine pe mediu cu sau fără streptomicină. Prin

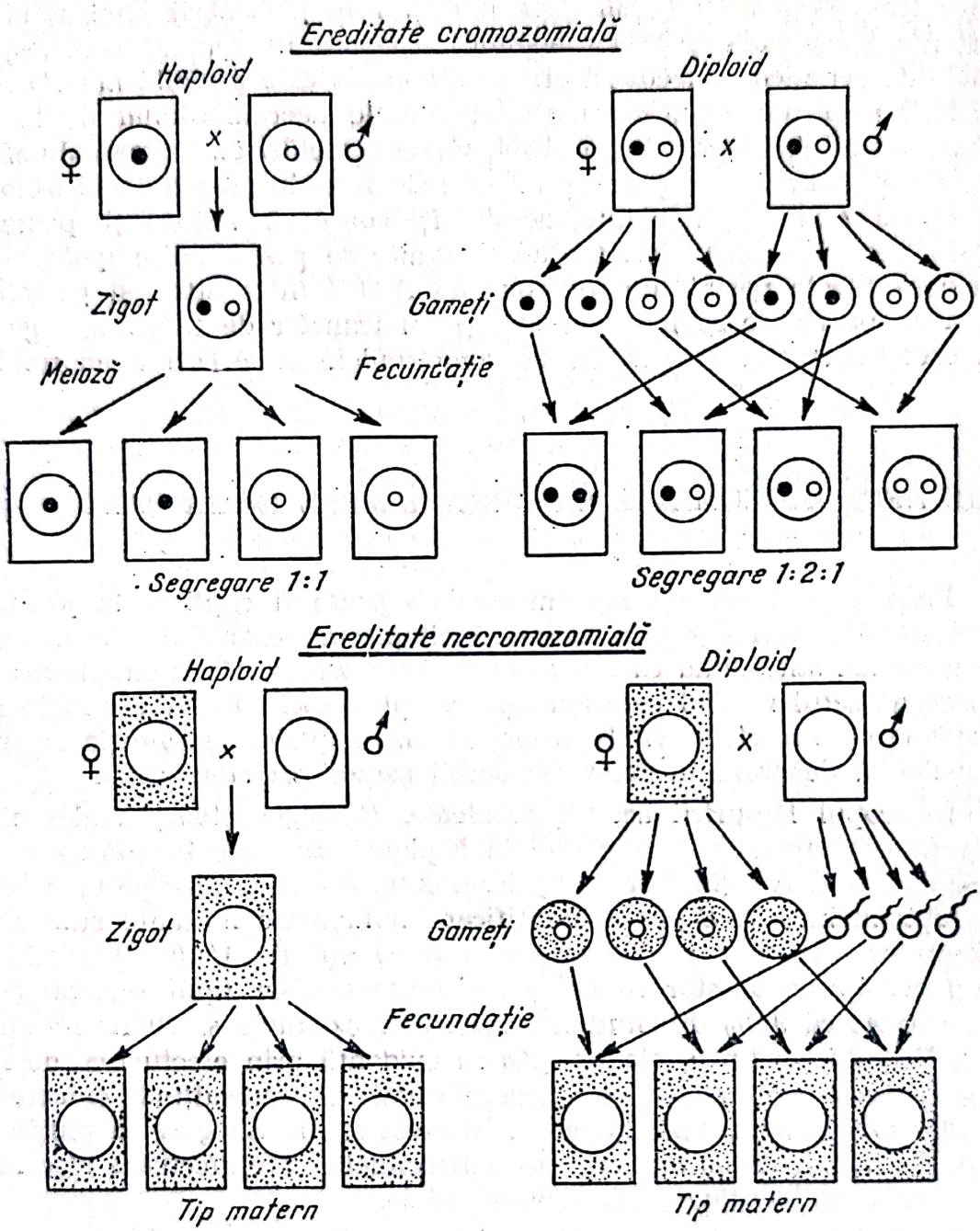



Fig. 87. Ereditatea cromozomială și necromozomială la organismele haploide și diploide. La organismele diploide ereditatea necromozomială este de natură citoplasmatică deoarece numai gameții femeli au citoplasmă ; la cele haploide ambii gameți (♀ și ♂) au citoplasmă și ca urmare este vorba de gene necromozomiale.

Scanned with OKEN Scanner

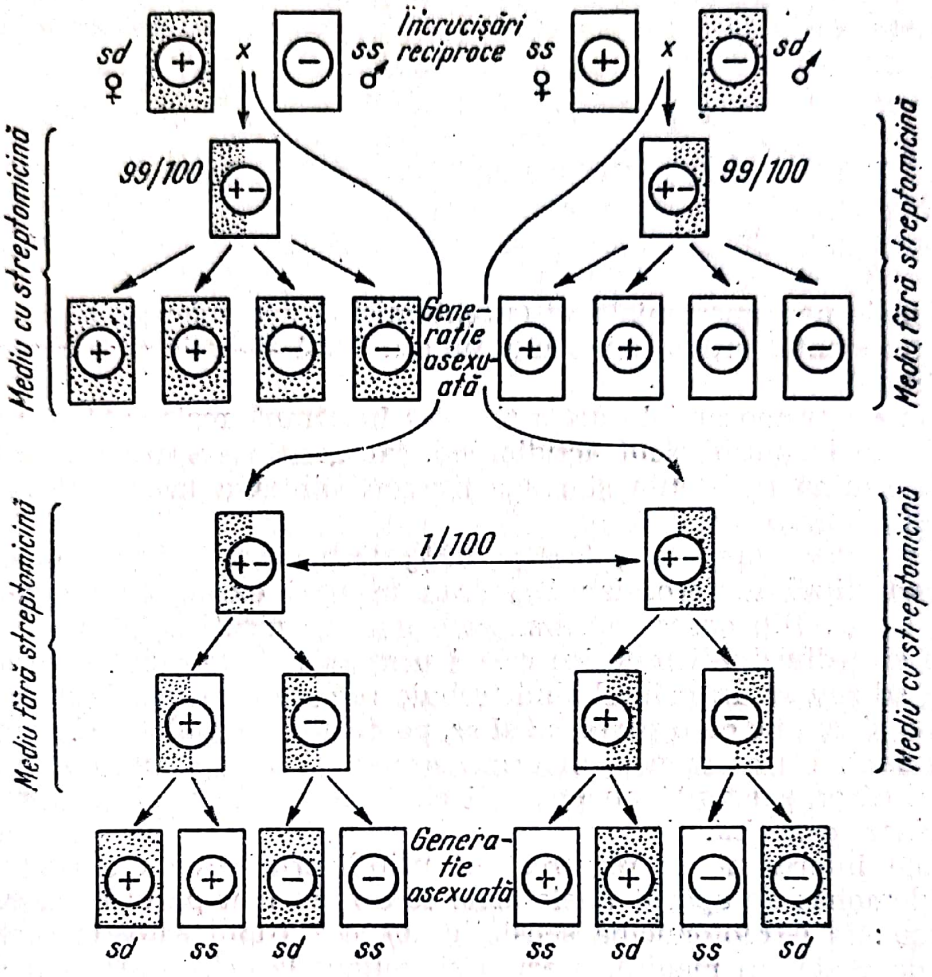



Fig. 88. Încrucișări reciproce la *Chlamidomonas* între tipul sensibil la streptomicină *(s s)* și cel dependent de streptomicină *(s d)* și de sexe diferite (+ și —). Genele necromozomiale care determină tipul algei *(s s* sau *s d)* se moștenesc în 99% din cazuri pe linie maternă și în 1% din cazuri se transmit ambele tipuri genitoare. S-au putut astfel izola gene necromozomiale paterne, apărute în urma segregării.

cultivarea zigoților proveniți din încrucișarea reciprocă pe medii diferite decît cel cerut de ereditatea maternă necromozomială, R. S a g e r a selecționat indivizi care transmit *gene necromozomiale paterne*.

R. S a g e r a încrucișat apoi 2 sușe de *Chlamidomonas* care se deosebeau între ele atît prin gene cromozomiale cît și necromozomiale.

Genele necromozomiale $ac_1$ *și* $ac_2$ sînt niște mutante care blochează fotosinteza, astfel că ele nu pot crește decît în prezența acetatului în mediu. Ele provin din tipul sălbatic $ac^+$.

| Sexul | gene necromozomiale | | gene cromozomiale | | |
|---|---|---|---|---|---|
| ♀ | $ac_1$ | *sd* | *act-r* | *ms-r* | $mt^+$ |
| ♂ | $ac_2$ | *sr* | *act-s* | *ms-s* | $mt^-$ |

Genele necromozomiale *sd* (streptomicină dependență) și *sr* (streptomicină rezistență) provin prin mutație din tipul sălbatic *ss* (streptomicină sensibilitate).

Genele cromozomiale *act-r* și *act-s* înseamnă rezistență și respectiv sensibilitate la antibioticul actidionină, iar genele cromozomiale *ms-r* și *ms-s* determină rezistența și respectiv sensibilitatea la substanța metionină sulfoximină.

Din încrucișarea celor 2 sușe, 99% dintre zigoți erau $ac_1$, *sd*, adică moșteneau tipul matern, iar 1% erau în mod excepțional heterozigoți $ac_1$ $ac_2$ *sd sr*. Din această ultimă categorie de zigoți se obțin, în urma meiozei și a diviziunii mitotice care-i urmează, clone pure, care sînt $ac_1$ sau $ac_2$, sd sau *sr*. În primul rînd trebuie remarcat că genele necromozomiale $ac_1$ și $ac_2$, pe de o parte, *sd* și *sr*, pe de alta, sînt alele, ele segregînd independent. De asemenea, în urma segregării au apărut sușe $ac_1$ *sr* și $ac_2$ *sd* a căror existență nu poate fi explicată decît printr-un proces de *recombinare genetică*.

Este interesant de remarcat că prin încrucișarea celor 2 sușe de Chlamidomonas au apărut unele alele care n-au luat parte la încrucișare, și anume : ss (streptomicină sensibilitate), $ac^+$ (tipul sălbatic care n-are nevoie de acetat în mediu), precum și mutantele *ac'*, *sr'*, *sd'* (cu diferite nivele de rezistență — dependență de acetat și streptomicină). Toate aceste alele noi provin probabil printr-un proces de recombinare genetică dintre *sd* și *sr*, precum și dintre $ac_1$ și $ac_2$.

Se poate astfel conchide că genele necromozomiale se comportă în cazul algei *Chlamidomonas* asemănător cu cele cromozomiale, fiind capabile de *segregare independentă* și *recombinare genetică*. Aceasta însă numai în cazul unui procent redus (1%) de zigoți. În cazul majorității zigoților (99%) proveniți din încrucișare, genele necromozomiale se transmit numai pe linie maternă, în timp ce genele cromozomiale se transmit la descendenți pe bază de probabilitate.

## MECANISMUL EREDITĂȚII NECROMOZOMIALE

Descoperirea experimentală a fenomenului eredității necromozomiale a ridicat bineînțeles problema naturii genelor extracromozomiale și a mecanismului prin care ele se transmit la descendenți. Cercetări inte-

resante în acest sens au fost făcute de către Ph. L'Héritier (1948) la *Drosophila melanogaster*, de T. M. Sonneborn (1954) la *Paramecium aurelia* și de R. Sager (1963 și 1965) la *Chlamidomonas*.

La musculița de oțet *(Drosophila melanogaster)*, Ph. L'Héritier a descoperit că pe lîngă tipul normal care este relativ rezistent la concentrații mari de bioxid de carbon ($CO_2$) din aer, există mutante care sînt foarte sensibile și pier la concentrații reduse de $CO_2$. Cînd femele ale tipului sensibil au fost încrucișate cu masculi normali, descendenții erau aproape în totalitate sensibili. Dimpotrivă cînd femele normale s-au încrucișat cu masculi sensibili, descendenții erau aproape toți normali. Încrucișarea reciprocă între cele două tipuri de musculițe arată că sensibilitatea se transmite mai ales pe cale maternă cu ajutorul citoplasmei ovulei.

Pentru a se verifica acest fapt, experiențele au fost continuate în felul următor : femelele sensibile la $CO_2$ au fost încrucișate cu masculi normali. Femelele din $F_1$ sensibile la $CO_2$ au fost din nou încrucișate cu masculi normali, obținîndu-se o nouă generație hibridă. Femelele sensibile la $CO_2$ din această generație au fost din nou încrucișate cu masculi normali, repetîndu-se această operație mai multe generații, pînă ce toți cromozomii formei materne au fost înlocuiți cu cromozomi de la forma normală. Cu toate acestea s-a constatat că descendența era sensibilă la $CO_2$, fapt care arată că transmiterea sensibilității la $CO_2$ se face pe cale necromozomială, prin intermediul citoplasmei ovulei, fiind independentă de nucleu. Cercetările ulterioare au reușit să pună în evidență în citoplasma musculițelor sensibile la $CO_2$ niște *particule sigma sau genoizi*, asemănătoare virusurilor și care au proprietăți infecțioase. Prin transplantarea ovarelor de la femele sensibile la $CO_2$ la femele normale, acestea au devenit sensibile la $CO_2$. Deși interesante, aceste cercetări nu dau un răspuns problemei mecanismului eredității necromozomiale, deoarece n-au reușit să pună în evidență în ce constau aceste particule sigma sau genoizi.

T. M. Sonneborn a studiat la *Paramecium aurelia* modul cum se produce segregarea la încrucișarea între 2 tipuri de indivizi : tipul „rezistent", care secretă în apă o substanță toxică denumită *paramecină*, care provoacă moartea tipului opus „sensibil". Capacitatea de a secreta paramecina se datorește unor *particule Kappa* aflate în citoplasmă și care se transmit pe linie maternă. Inițial s-a considerat că aceste *gene citoplasmatice* sau *plasmagene* sînt complet independente de nucleu, însă ulterior s-a constatat că ele nu se pot reproduce decît la paramecii care posedă gena dominantă *K* în stare homozigotă (*K K*) sau heterozigotă (*K k*) în nucleu (denumirea genei *K* provine de la cuvîntul englezesc killer ce înseamnă criminal). Particulele Kappa se află numai în citoplasma tipului rezistent și lipsesc complet la cel sensibil.

Cu toate că cele două tipuri nu pot conviețui în același mediu, printr-o tehnică corespunzătoare (temperatură mai scăzută și hrană în cantitate redusă prin care se micșorează cantitatea de paramecină pro-

Scanned with OKEN Scanner

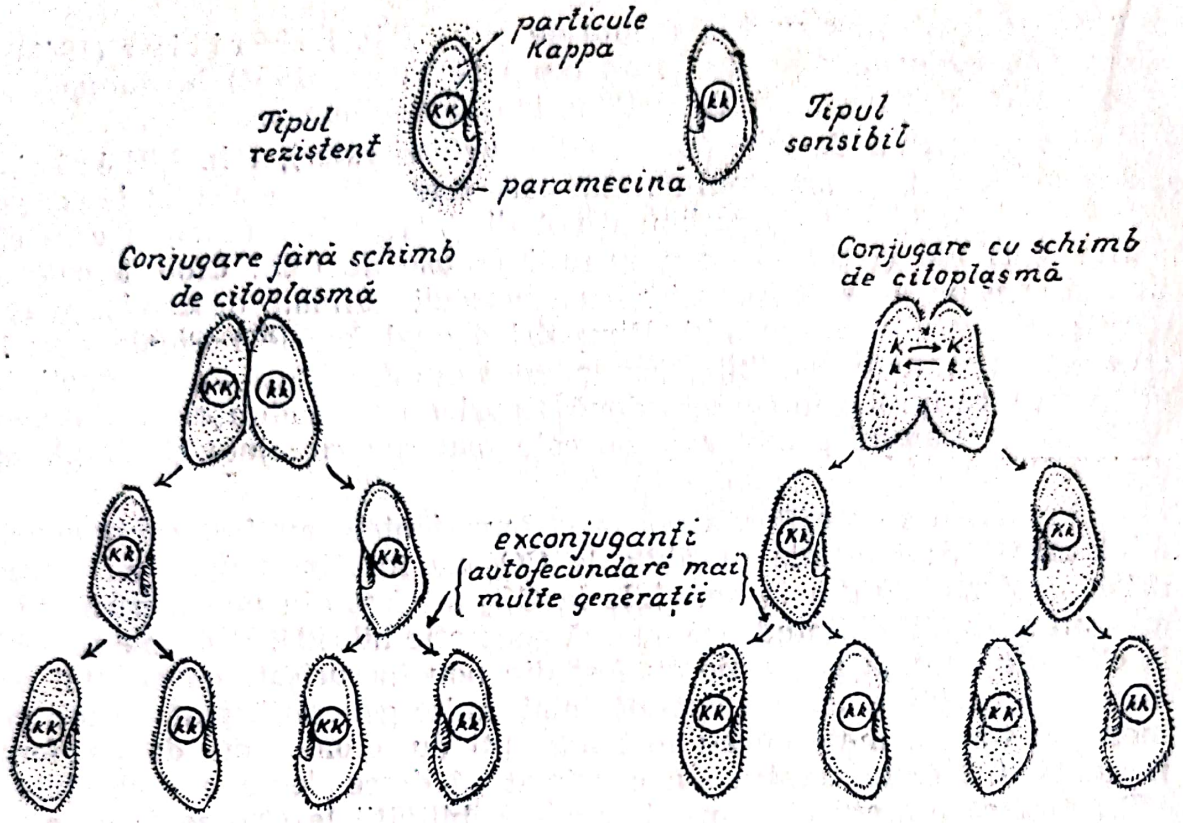



Fig. 89. Segregarea la *Paramecium aurelia* în cazul conjugării cu și fără schimb de citoplasmă.

dusă de tipul rezistent) s-a reușit ca ele să fie încrucișate (conjugate). S-a constatat că indivizii care au luat parte la încrucișare rămîn neschimbați, cu toate că s-a produs un schimb de gene în sensul că tipul rezistent dă naștere prin diviziune la descendenți rezistenți, iar cel sensibil la descendenți sensibili.

În unele cazuri însă, conjugarea paramecilor durează timp mai îndelungat, astfel că între cei doi parameci se realizează nu numai un schimb nuclear, ci și de citoplasmă. În urma conjugării, tipul sensibil primește particule Kappa de la cel rezistent și devine la rîndul său rezistent. Dacă acești parameci heterozigoți (*K k*) sînt hrăniți abundent și puși la o temperatură mai ridicată pentru ca să se dividă mai rapid, s-a constatat că particulele Kappa nu se pot reproduce cu aceeași viteză cu care se reproduc paramecii. Ca urmare s-a reușit să se obțină pe această cale parameci care posedă gena *K*, dar sînt lipsiți de particule Kappa în citoplasmă și sînt sensibili. Ei pot redeveni rezistenți numai dacă sînt puși într-un vas în care se află parameci rezistenți zdrobiți și de la care s-a eliminat paramecina. Particulele Kappa de la acești parameci zdrobiți pot fi încorporate în corpul paramecilor sensibili heterozigoți (*K k*) care încep astfel să secrete paramecină.

Din aceste cercetări reiese că pentru ca paramecii să fie de tip rezistent și să posede particule Kappa în citoplasmă este absolut necesară

prezența genei *K* în nucleu. Însă prezența genei *K* în nucleu nu este suficientă pentru ca indivizii să secrete paramecină, ci ei trebuie să posede sau să capete particule Kappa citoplasmatice care apoi se reproduc și secretă paramecina.

Aceste cercetări au dus la emiterea ipotezei că particulele Kappa ar putea fi de natură virotică, deoarece ele trăiesc exclusiv în citoplasmă și au un caracter „infecțios". Cercetări mai noi au arătat însă că în citoplasma paramecilor rezistenți se află aproximativ 400 particule Kappa, cu 0,2—0,8 microni diametru și care conțin acid dezoxiribonucleic (A D N). Datorită faptului că în constituția lor se află A D N, particulele Kappa se pot autoreproduce la fel cu materialul nuclear. Pe această bază se poate conchide că *informația ereditară se află înregistrată în A D N-ul citoplasmatic la fel ca în cel cromozomial și că mecanismul cromozomial și cel necromozomial al eredității au același substrat material.*

În sprijinul tezei că mecanismul molecular al eredității cromozomiale și necromozomiale este identic, vin și rezultatele lui R. S a g e r (1963 și 1965), care a identificat în cloroplastele de *Chlamidomonas o fracție mai ușoară de A D N, cu proprietăți distincte fizice și chimice, care reprezintă 40% din totalul cantității de A D N din cloroplaste.* Prin centrifugarea și apoi prin testarea privind absorbția în ultraviolet cu lungimea de 2 600 Å a A D N din întreaga celulă, s-a constatat că fracția ușoară reprezintă 5% din totalul A D N din celule.

Cercetările asupra A D N necromozomial au dus astfel la identificarea unui *tip special de A D N* în cloroplastele algelor și ale diferitelor plante superioare. Mai recent, D. J. L. L u c k și E. R e i c h de la Institutul Rockefeller din New-York au identificat A D N necromozomial

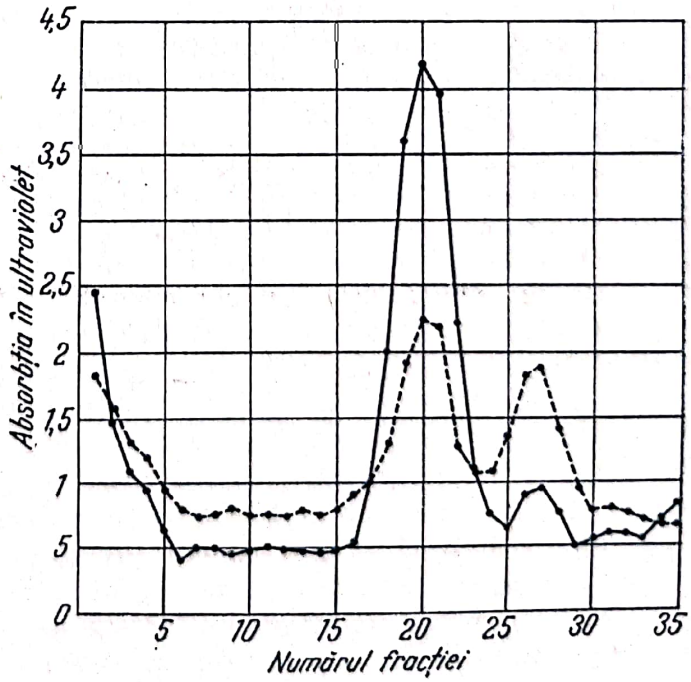



Fig. 90. Fracția normală (linie continuă) și fracția mai ușoară (linie punctată) de A D N separat prin centrifugare la *Chlamidomonas* (după Sager, 1965)

în mitocondrii, organele comune celulelor vegetale și animale. Aceste cercetări constituie o bază satisfăcătoare pentru ipoteza că *A D N necromozomial are un rol similar celui cromozomial, conținînd înregistrată o parte a informației genetice a viețuitoarelor*. După părerea lui R. S a g e r, în timp ce sistemul genetic cromozomial poartă informația genetică primară și este strict legat de procesul diviziunii celulare, sistemul genetic necromozomial a apărut mai tîrziu în cursul filogeniei, el nefiind legat de diviziunea celulară. După cum se știe, cloroplastele și mitocondriile au un sistem propriu de autoreproducere, independent de divizuinea celulară și influențat de mediu. Ca urmare se poate presupune că apariția sistemului genetic necromozomial are rolul de a mări flexibilitatea organismului ca reacție la schimbarea mediului și de a completa astfel sistemul genetic cromozomial.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL VIII

# CONSANGVINIZAREA, ÎNCRUCIȘAREA ȘI HETEROZISUL

## CONSANGVINIZAREA

De multă vreme este cunoscut efectul negativ al căsătoriei între rude apropiate asupra vitalității descendenței, fapt pentru care incestul este interzis prin lege, prin uzanță sau de către religii la majoritatea popoarelor. Un efect similar îl are încrucișarea între indivizi înrudiți sau autofecundarea — adică consangvinizarea — la plante și animale.

Consangvinizarea, deși reduce vitalitatea descendenței, se utilizează totuși în lucrările de genetică pentru reducerea heterozigoției și mărirea gradului de homozigoție într-o populație, conform cu legea Hardy-Weinberg. La plantele alogame și la animalele superioare este posibilă obținerea pe această cale a unor *linii pure* cu un grad înalt de homozigoție.

Primele cercetări în această direcție au fost efectuate în S.U.A. la porumb de către E. M. East și G. H. Shull (1904 respectiv 1905). Ei au observat o reducere considerabilă a vigorii plantelor consangvinizate în cursul mai multor generații succesive de autopolenizare, precum și o mărire a vitalității în cazul încrucișării între plante consangvinizate.

Efectul genetic cel mai important al consangvinizării constă în mărirea gradului de homozigoție a unei populații panmictice. De pildă, la porumb dacă se încrucișează două soiuri deosebite printr-o pereche de gene alele *A a* se obține prima generație 100% heterozigotă, iar în generația a doua are loc segregarea astfel : 25% *A A* : 50% *A a* : 25% *a a*. În generația a treia plantele heterozigote reprezintă numai 25% din populație, în generația a patra numai 12,5%, în generația a cincea numai 6,25% etc. Aceasta înseamnă că fiecare generație de consangvinizare reduce procentul de heterozigoție la jumătate și mărește pe cel al homozigoților.

Scanned with OKEN Scanner

În ce constă însă importanța reducerii gradului de heterozigoție ? După cum se știe, în natură apar permanent mutații la plante și animale, din care majoritatea sînt letale, semiletale sau care influențează negativ organismele.

**MĂRIREA GRADULUI DE HOMOZIGOȚIE ȘI REDUCEREA HETEROZIGOȚIEI PRIN CONSANGVINIZARE**

| Generații de consangvinizare | *A A* | *A a* | *a a* | Homozigoți *A A* + *a a* |
|---|---|---|---|---|
| 0 | — | 100% | — | 0 |
| 1 | 1/4 | 2/4 | 1/4 | 50% |
| 2 | 3/8 | 2/8 | 3/8 | 75% |
| 3 | 7/16 | 2/16 | 7/16 | 87,5% |
| 4 | 15/32 | 2/32 | 15/32 | 93,75% |
| 5 | 31/64 | 2/64 | 31/64 | 96,875% |
| n | $\frac{(2^n)-1}{2^n+1}$ | $\frac{2}{2^n+1}$ | $\frac{(2^n)-1}{2^n+1}$ | — |

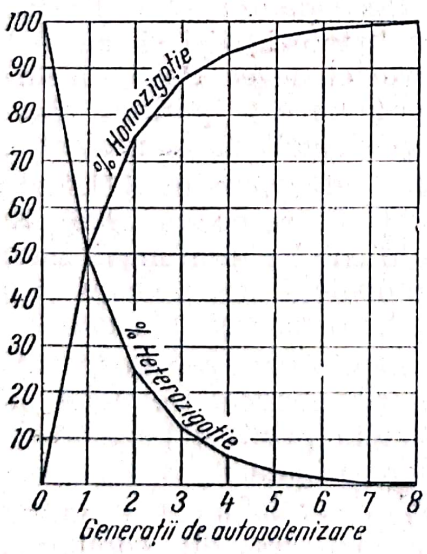



Fig. 91. Reducerea heterozigoției și creșterea homozigoției prin autopolenizarea plantelor alogame.

Selecția naturală elimină relativ rapid mutantele dominante sau semidominante, în vreme ce mutațiile recesive — care reprezintă majoritatea — sînt păstrate în organismele heterozigote. Iată după T. Dobzkansky și Spassky cît de mare este procentul de cromozomi cu gene recesive care determină diferite tipuri de anomalii în dezvoltarea indivizilor din populații naturale de *Drosophila pseudoobscura* și *D. persimilis*. Ca urmare, populațiile naturale conțin un procent important de gene recesive dăunătoare. Prin consangvinizare se reduce rapid numărul de organisme heterozigote și respectiv procentul de gene recesive dăunătoare, care sînt eliminate o dată cu liniile respective consangvinizate ce le conțin.

Scanned with OKEN Scanner

| Specii | Cromozomii | Mutații letale sau semiletale | Mutații subvitale | Sterilitate femelă | Sterilitate masculă |
|---|---|---|---|---|---|
| *D. pseudoobscura* | II | 33 | 93 | 11 | 8 |
| | III | 25 | 41 | 14 | 11 |
| | IV | 26 | 95 | 4 | 12 |
| *D. persimilis* | II | 25 | 84 | 18 | 13 |
| | III | 23 | 74 | 14 | 16 |
| | IV | 28 | 98 | 18 | 8 |

La plantele alogame prin autopolenizare se realizează o consangvinizare foarte rapidă și strictă, în timp ce la animale prin încrucișare înrudită de tip frate-soră, tată-fiică, mamă-fiu, veri primari, veri de-al doilea etc. se realizează o consangvinizare mai lentă.

Pentru a determina gradul de consangvinizare al animalelor S. Wright a elaborat formula următoare :

$$F_x = \Sigma \left[\left(\frac{1}{2}\right)^{n+n'+1} (1 + F_A)\right].$$

În această formulă :

$F_x$ = coeficientul de consangvinizare al organismului $X$ ;
$n$ = numărul de generații de la genitorul patern al organismului $X$ la strămoșul comun ;
$n'$ = numărul de generații de la genitorul matern al organismului $X$ la strămoșul comun ;
$\Sigma$ = însumarea rezultatelor separate pentru fiecare strămoș comun ;
$F_A$ = coeficientul de consagvinizare pentru strămoșul comun, cînd acesta este el însuși consangvinizat.

Cu ajutorul acestei formule se poate calcula gradul de înrudire între genitorul matern și patern, care se exprimă cu ajutorul unui coeficient a cărui valoare variază între 0 și 1. În timp ce 0 reprezintă heterozigoția originală a genitorilor, valorile diferite între 0 și 1 constituie diferite grade de consangvinizare. Iată trei exemple de calcul după F. B. Hutt (1964) ale gradului de consangvinizare :

1) Animalul X are un strămoș comun C :

$$X \begin{cases} A \begin{cases} C \\ D \end{cases} \\ B \begin{cases} C \\ E \end{cases} \end{cases}$$

$$F_x = \left(\frac{1}{2}\right)^{1+1+1} = \left(\frac{1}{2}\right)^3 = 0{,}125.$$

Coeficientul de consangvinizare este de 12,5%.

2) Animalul are doi strămoşi comuni $C$ şi $D$, provenind deci dintr-o încrucişare de tip frate × soră :

$$X \begin{cases} A \begin{cases} C \\ D \end{cases} \\ B \begin{cases} C \\ D \end{cases} \end{cases}$$

Calculul pentru strămoşul comun C :

$$F_x = \left(\frac{1}{2}\right)^{1+1+1} = \left(\frac{1}{2}\right)^3 = 0{,}125.$$

Calculul pentru strămoşul comun D :

$$F_x = \left(\frac{1}{2}\right)^{1+1+1} = \left(\frac{1}{2}\right)^3 = 0{,}125.$$

Prin însumare (0,125 + 0,125) se obţine coeficientul de consangvinizare 0,250 pentru animalul $X$, adică 25%.

3) Animalul are strămoşi comuni care sînt ei înşişi consangvinizaţi :

$$X \begin{cases} A \begin{cases} C \begin{cases} E \\ F \end{cases} \\ D \begin{cases} E \\ G \end{cases} \end{cases} \\ B \begin{cases} A \begin{cases} C \\ D \end{cases} \\ H \begin{cases} M \\ G \end{cases} \end{cases} \end{cases}$$

După cum se observă, animalul $A$ este consangvinizat avînd strămoş pe $E$ atît după mamă cît şi după tată. Calculul pentru animalul $A$ este următorul : $F_A = \left(\frac{1}{2}\right)^{1+1+1} = 0{,}125 = 12{,}5\%$.

contribuţia lui $A$ este :

$$F_x = \left(\frac{1}{2}\right)^{0+1+1} \cdot \left(1 + \frac{1}{2}^{1+1+1}\right) = \left(\frac{1}{2}\right)^2 \cdot \left(1 + \frac{1}{8}\right) =$$

$$= \frac{1}{4} \cdot \frac{9}{8} = \frac{9}{32} = 0{,}28125;$$

$$F_x = \left(\frac{1}{2}\right)^{2+2+1} = \left(\frac{1}{2}\right)^5 = \frac{1}{32} = 0{,}03125.$$

Scanned with OKEN Scanner

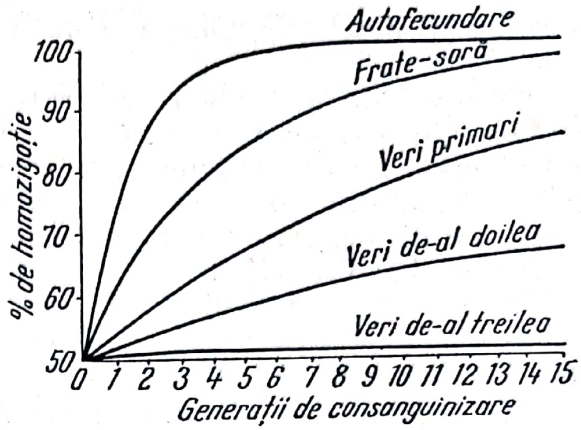



Fig. 92. Creșterea homozigoției prin diferite tipuri de consangvinizare.

Prin însumare se obține coeficientul de consangvinizare al animalului $X = 0{,}28125 + 0{,}03125 = 0{,}3125$ adică 31,25%. Trebuie menționat că deși animalele *C* și *D* apar ca strămoși comuni, calculul lor nu se ia în considerație deoarece ele sînt genitori pentru *A*, la care nu s-a făcut calculul de consangvinizare. Cu ajutorul formulei lui Wright s-a calculat cît de repede se realizează homozigoția prin diferite tipuri de încrucișare consangvină.

Prin autofecundare, homozigoție completă se realizează în 7—8 generații, prin încrucișarea de tip frate × soră homozigoție în proporție de 90% se realizează în 5 generații, iar prin încrucișarea între veri primari se ajunge în 16 generații la o homozigoție în proporție de 65%.

## HIBRIDAREA SEXUATĂ

### SCURT ISTORIC

Bazele științifice ale metodei de hibridare sexuată la plante și animale au fost puse în secolul al XIX-lea, deși primele încercări de încrucișare sexuată în scopuri practice au fost efectuate încă în antichitate. Astfel, popoarele antice din Orientul Apropiat (Mesopotamia, Arabia, Egipt etc.), pentru a obține recolte mari de fructe la curmal (*Phoenix dactylifera* L.) și la smochin (*Ficus carica* L.), polenizau artificial florile femele cu polen de la cele mascule. Operația polenizării artificiale a curmalului este prezentată într-un basorelief din palatul împăratului asirian Assurnazirpal (883—859 î.e.n).

Existența sexelor la plante a fost semnalată de unii savanți antici, ca: Empedocle, Aristotel, Teofrast, Pliniu, Lucreț iu etc., încă înainte de era noastră. În evul mediu, majoritatea botaniștilor neagă existența sexelor la plante, așa cum face, de pildă, botanistul Andrea Cesalpino (1519—1603), care susține că deosebirea esen-

țială dintre plante și animale constă în aceea că animalele au sex, iar plantele n-au.

Meritul de a fi redescoperit existența sexelor la plante a revenit profesorului german Rudolf Iacob Camerarius (1665—1721), de la Universitatea din Tübingen. În lucrarea *Epistola de sexu plantarum* (1694), Camerarius arată că prin izolarea plantelor femele de cele mascule la speciile dioice, cum sînt : spanacul *(Spinacea oleracea)*, cînepa *(Cannabis sativa)*, hameiul (*Humulus lupulus)*, trepădătoarea *(Mercurialis annua)* etc., nu se formează semințe. Pe baza cercetărilor sale asupra sexualității la plante, Camerarius împarte plantele cu flori în trei grupe : hermafrodite, unisexuat-monoice și unisexuat-dioice.

În secolul al XVIII-lea se fac numeroase cercetări asupra sexelor la plante și se pun bazele metodei de hibridare sexuată artificială, la diferite specii. Astfel, grădinarul englez Thomas Fairchid obține hibrizi artificiali între speciile *Dianthus caryophyllus* și *D. barbatus* (1719), Miller Ph. obține astfel de hibrizi la varză (1721), Hanchman la mazăre (1729), B. Sooke la meri (1745) Gemlin la *Delphinium* (1745), Johan Gleditch la palmieri (1750), K. Linné la *Mirabilis* și *Tragopogon* (1758) etc.

Primele hibridări sexuate artificiale în vederea obținerii unor forme noi de plante cu importanță practică au fost însă efectuate de botanistul rus Joseph Koelreuter (1733—1806), membru al Academiei de Științe din Petersburg.

Acesta a făcut încrucișări sexuate între mahorcă *(Nicotiana rustica)* și tutun *(N. paniculata)* și a obținut hibrizi care în prima generație erau foarte productivi, precum și cu frunze de calitate superioară, însă erau sterili. Pentru a elimina sterilitatea hibrizilor, I. Koelreuter a polenizat florile acestora cu polen de la specia-mamă *(N. rustica)* și cu polen de la specia-tată *(N. paniculata)*, obținînd plante fertile cu caractere intermediare.

La sfîrșitul secolului al XVIII-lea, selecționatorul englez Thomas Knight (1759—1838) a efectuat hibridări sexuate la mazăre, cartof, piersic, prun, vișin, fragi, coacăze etc. și a reușit să creeze pe această cale mai multe soiuri care s-au păstrat multă vreme în cultură. De pildă, prin încrucișarea a două soiuri de piersic, T. Knight a obținut un hibrid care nu numai că avea fructe mari și de calitate superioară, dar care era foarte rezistent la diferite boli și dăunători, fapt ce prezintă importanță pentru practică.

Deși în secolul al XVIII-lea au fost aproape 40 de naturaliști care s-au ocupat cu studiul sexelor la plante și au făcut hibridări sexuate artificiale, totuși lucrările lor nu s-au bucurat de prea mare circulație și n-au fost cunoscute și acceptate de contemporani. Iată de ce la începutul secolului al XIX-lea Academia de Științe din Prusia consideră necesar să instituie un concurs pe tema dacă se pot produce încrucișări în regnul vegetal. Concursul a fost cîștigat de botanistul german A. F. Wiegmann, care în anul 1826 prezintă la academie cercetările sale asupra a 36 de combinații hibride efectuate la diferite specii de plante de cul-

Scanned with OKEN Scanner

tură, ca : ovăz, mazăre, fasole, linte, măzăriche, ceapă, tutun, garoafe etc. În urma unui studiu amplu, A. F. Wiegmann a ajuns la unele concluzii importante, ca acelea că plantele aparținînd la genuri diferite de obicei nu se încrucișează între ele, că la hibrizii din prima generație apar uneori numai caracterele și însușirile unui părinte, că pentru a evita corcirea soiurilor de varză și de alte plante alogame este necesară izolarea lor în spațiu etc.

În anul 1835, Academia olandeză de științe din Harlem a instituit un premiu pentru cea mai bună lucrare privind hibridarea la plante și posibilitatea obținerii de forme noi pe această cale. Premiul a fost atribuit botanistului german K. F. Gärtner, pentru lucrarea sa *Hibridarea plantelor în scop practic,* pe care a publicat-o în anul 1839. În această lucrare, K. F. Gärtner prezintă rezultatele a 25 de ani de muncă, în care a obținut peste 350 de hibrizi, din încrucișarea a circa 700 de specii de plante. Aceste vaste cercetări l-au dus pe K. F. Gärtner la concluzia că plantele hibride din prima generație ($F_1$) sînt mai uniforme decît cele din generațiile următoare, care sînt mult mai diferențiate. De asemenea, Gärtner a observat că hibrizii manifestă o creștere mai viguroasă, în special în prima generație.

În a doua jumătate a secolului al XIX-lea cercetările privind hibridarea la plante iau o amploare mai mare. Academia franceză din Paris instituie, în anul 1861, un concurs privind problema modului cum se transmit caracterele părinților la hibrizi și a fertilității descendenței. Concursul a fost cîștigat de către cercetătorul francez Charles Naudin, de la Muzeul de Istorie Naturală din Paris, a cărui lucrare, *Nouvelles recherches sur l'hérédité chez les vegetaux,* a fost publicată în anul 1863. Ch. Naudin a făcut numeroase hibridări între specii, ca, de pildă : *Datura loevis X D. stramonium, Primula grandiflora X P. officinalis, Linaria purpurea X L. vulgaris, Nicotiana augustifolia X N. macrophylla, Petunia violacea X P. nyctaginifolia etc.,* iar rezultatele la care a ajuns le-a publicat atît în lucrarea menționată cît și într-o serie de alte lucrări, care au apărut în perioada 1864—1875.

Analizînd diferitele generații hibride, Ch. Naudin consideră că plantele hibride din prima generație ($F_1$) sînt forme intermediare între cei doi părinți, deși uneori sînt mai apropiate de forma maternă, iar alteori de cea paternă. Indiferent însă ce caractere și însușiri prezintă, plantele din prima generație manifestă o mare uniformitate.

În generația a doua ($F_2$) apar plante asemănătoare cu un părinte, cu celălalt părinte, precum și forme intermediare, la fel ca în prima generație. De fapt, în concepția lui Ch. Naudin, formele intermediare constituie un „mozaic viu", ele manifestînd în măsură diferită caracterele ambilor genitori. Un exemplu devenit clasic în acest sens îl prezintă hibridul obținut de el în 1859, între speciile *Datura loevis* (cu capsula fără ghimpi) și *D. stramonium* (cu capsula prevăzută cu ghimpi), ale cărui capsule pe o parte aveau ghimpi, iar pe cealaltă nu aveau.

În aceeași perioadă cu Ch. Naudin își publică lucrările botanistul D. A. Godron, care semnalează, de asemenea, uniformitatea primei

generații de hibrizi la plante și marea variabilitate a generațiilor următoare. D. A. Godron consideră că prin încrucișarea a două soiuri sau varietăți din cadrul unei aceleiași specii se obțin întotdeauna hibrizi fertili, în timp ce prin încrucișarea între specii diferite se obțin hibrizi sterili. Pentru a evita acest neajuns al hibrizilor dintre specii, D. A. Godron recomandă polenizarea florilor lor cu polen de la unul dintre părinți. Această metodă a dat rezultate bune și ea se aplică și în prezent în lucrările de hibridare interspecifică la plante.

Cunoscutul selecționator francez H. Vilmorin a arătat încă în a doua jumătate a secolului al XIX-lea că prin hibridarea sexuată se zdruncină puternic natura plantelor (faire affoler) și ca rezultat se obține o mare variabilitate. Din acest material inițial se pot selecționa soiuri noi, care să întrunească caracterele și însușirile valoroase ale genitorilor.

Care este însă importanța biologică a apariției sexelor și a procesului fecundării la plante și animale? Cum se explică apariția sexelor în cursul evoluției? O mare însemnătate pentru lămurirea acestor probleme revine lucrărilor lui Ch. Darwin referitoare la hibridarea sexuată și la procesul fecundației organismelor. Ch. Darwin a descoperit *legea utilității biologice a încrucișării*, care constă în avantajele care rezultă pentru descendența provenită în urma contopirii în procesul fecundării a unor celule sexuale diferențiate. În lucrările sale *Originea speciilor* (1959), *Fecundarea orhideelor* (1862) și mai ales în *Efectele fecundării încrucișate și ale autofecundării în regnul vegetal* (1876), Ch. Darwin aduce numeroase dovezi din care rezultă: „...faptul remarcabil că plantele născute din flori autofecundate sînt inferioare ca înălțime și vigoare, chiar din prima generație, față de cele provenite din fecundarea încrucișată“ *.

Utilitatea biologică a încrucișării și nocivitatea autopolenizării, descoperită de Ch. Darwin, a fost denumită de către acesta *marea lege a naturii*, tocmai pentru a scoate în evidență importanța deosebită a fenomenului. Cu ajutorul legii utilității biologice a încrucișării, Ch. Darwin explică însăși apariția sexelor, scriind „...descendența provenită din combinarea a doi indivizi deosebiți, mai ales dacă strămoșii lor au fost supuși unor condiții de viață diferite, este superioară în ceea ce privește înălțimea, greutatea, constituția și prolificitatea față de descendența provenită prin autofecundarea fiecăruia dintre părinți. Acest fapt este absolut suficient pentru a explica originea elementelor sexuale, adică geneza celor două sexe“ **.

Ch. Darwin subliniază în lucrările sale că utilitatea biologică a încrucișării se datorește faptului că în procesul fecundării se unesc celulele sexuale diferențiate, rezultate în urma unor schimbări în condițiile de viață. Pentru a evita efectele negative ale autofecundării, la plante au apărut, datorită selecției naturale, numeroase adaptări care favorizează

---

* Ch. Darwin, *Originea speciilor*, Editura Acadamiei R.P.R., 1957, p. 30.
** Ch. Darwin, *Deistvie perekrestnovo opîlenia i samoopîlenia v rastitelnom mire*, Selhozghiz, 1939, p. 317.

fecundarea încrucișată. În lucrarea *Fecundarea orhideelor,* Ch. Darwin prezintă numeroasele mijloace prin care la acest grup de plante se asigură fecundarea încrucișată. Într-o altă lucrare, *Despre cele două forme sau despre starea dimorfă a Primulei,* publicată în *„Journal of the Linnean Society"*, Ch. Darwin arată că la *Primula* există două tipuri de plante : unul cu pistil scurt și stamine lungi și altul cu pistil lung și stamine scurte. El a constatat că prin fecundarea florilor cu pistiluri scurte ale unui tip, cu polen de la staminele scurte ale celuilalt tip se obțin mai multe semințe și plante mai viguroase decît prin polenizarea florilor unui tip cu polen propriu. La această plantă, deși florile ambelor tipuri sînt hermafrodite, totuși, prin existența celor două tipuri de plante, se asigură fecundarea încrucișată.

K. A. Timireazev, care a cunoscut lucrările lui Darwin privitoare la procesul fecundării la plante, le-a dat o înaltă apreciere. Referindu-se la legea utilității biologice a încrucișării și la nocivitatea autofecundării, K. A. Timireazev scria : „Această din urmă lege ar fi trebuit demult să fie denumită *legea lui Darwin* sau *darvinism*, în sensul restrîns al cuvîntului (spre deosebire de teoria lui de bază — darvinismul). Această lege constituie o explicație a rolului nenumăratelor adaptări observate în natură, care tind spre asigurarea fecundării încrucișate și constituie poate și o cheie pentru explicarea apariției însăși a procesului sexual" *.

Dacă se ține seama de legea utilității biologice a încrucișării, descoperită de Ch. Darwin, se poate explica cu ușurință de ce majoritatea speciilor de plante și animale se reproduc pe cale sexuată. Sexele și reproducerea pe cale sexuată au apărut în cursul evoluției organismelor, ele fiind rezultatul selecției naturale. În comparație cu reproducerea pe cale vegetativă, reproducerea sexuată a organismelor este un mijloc superior care asigură descendenți cu vitalitate sporită.

Naturalistul rus K. A. Timireazev, în lucrarea sa *Metoda istorică în biologie,* a analizat modul cum se manifestă caracterele și însușirile la hibrizii sexuați. Tipurile de ereditate observate la hibrizii sexuați sînt înglobate de către K. A. Timireazev în așa-numita *ereditate complexă,* caracteristică procesului sexual de reproducere a organismelor vii. După K. A. Timireazev, la hibrizii sexuați se manifestă trei tipuri de ereditate, și anume : *ereditate amestecată, ereditate contopită* și *ereditate cu excludere reciprocă.*

*Ereditatea amestecată* este un tip de ereditate prin care pe un același organism hibrid apar caractere materne și paterne. Astfel, pe o aceeași plantă hibridă apar uneori lăstari, frunze, flori etc. care se abat fie spre planta-mamă, fie spre planta-tată, încît hibridul respectiv pare un amestec al caracterelor genitorilor. De pildă, prin încrucișarea între *Mirabilis jalapa,* cu flori roșii și *Mirabilis longiflora,* cu flori albe, apar hibrizi la care pe un același individ există atît flori albe cît și flori roșii. Mai mult, uneori pe plantele hibride apar flori la care o parte din petale

* K. A. Timireazev, *Metoda istorică în biologie,* Editura de Stat, 1947, p. 177.

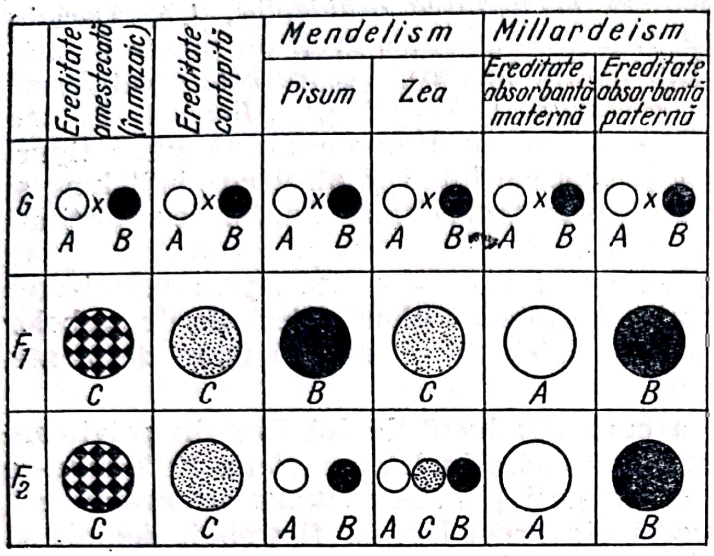



Fig. 93. Clasificarea tipurilor de ereditate după K. A. Timiriazev.

sînt roșii, iar o parte albe sau flori la care pe o aceeași petală există dungi sau pete roșii și albe. K. A. Timireazev citează, de asemenea, experiențele botanistului francez A. Millardet, care a obținut hibrizi între speciile de viță de vie *Vitis labrusca* și *Vitis aestivalis*, la care pe o aceeași frunză existau stomate difertie, specifice celor doi genitori. La animale, cele mai tipice exemple de ereditate amestecată sînt animalele bălțate, la care pe un același individ apar pete de culoarea celor doi genitori. Ereditatea amestecată, care se manifestă prin aceea că pe un același individ apar pete de culoare diferită, se mai numește și *ereditate în mozaic*.

Botanistul francez Ch. Naudin, care a cunoscut numeroase cazuri de ereditate amestecată, a denumit aceste cazuri „hybridation disjointe", adică încrucișare dezmembrată. El a subliniat faptul că deși hibrizii cumulează caracterele genitorilor, acestea apar însă separate, ocupînd sectoare diferite pe un același organism hibrid.

*Ereditatea contopită* este un alt tip de ereditate, care se manifestă prin aceea că la hibrizi apar caractere intermediare între genitori. K. A. Timireazev citează în acest sens hibridarea între speciile de lucernă *Medicago sativa*, care are flori de culoare bleu-violet, iar păstaia are forma unui tirbușon, și *Medicago falcata*, care are flori de culoare galbenă, iar păstaia are forma unei seceri. La plantele hibride *(Medicago intermedia)*, florile au o culoare intermediară între cea a părinților, iar păstaia este, de asemenea, intermediară, avînd o formă spiralată, cu 1,5—2 spire. Fenomenul eredității contopite a fost observat de C. Correns (1902) la hibrizii între varietățile alba și rosea ale plantei *Mirabilis jalapa*. Hibrizii din prima generație ($F_1$) prezintă flori de culoare roz-deschis, intermediară între cei doi genitori. În generația a doua ($F_2$), obținută în urma autofecundării plantelor din $F_1$, are loc fenomenul segregării, apărînd flori de culoare albă, roșie și roz-deschis.

Un alt caz de ereditate contopită a fost observat de A. Gautier (1913), la hibrizii dintre soiurile de viță de vie Aramon și Teinturier. Culoarea strugurilor la soiul de viță de vie Aramon este dată de o substanță colorantă cu formula $C_{46}H_{36}O_{20}$, iar culoarea strugurilor la soiul Teinturier este dată de o altă substanță, a cărei formulă este $C_{44}H_{40}O_{20}$. Soiul hibrid Banchet prezintă struguri de o coloraţie intermediară, iar substanța colorantă are, de asemenea, o constituție chimică intermediară : $C_{45}H_{38}O_{20}$.

Fenomenul prin care hibrizii din prima generație supuși autofecundării produc descendenți la care apar nu numai caractere intermediare, ci și formele pure ale părinților a fost denumit de K. A. Timireazev *legea lui Naudin-Mendel.* După părerea lui K. A. Timireazev, acest fenomen prezintă o mare importanță pentru evoluția organismelor, deoarece formele pure nu dispar în urma hibridării, ci se obține numai un bogat material inițial, cuprinzînd forme pure și intermediare, din care selecția naturală va păstra pe cele mai corespunzătoare.

*Ereditatea care se exclude reciproc* este cel de-al treilea tip de ereditate complexă în clasificarea lui K. A. Timireazev. Acest tip de ereditate cuprinde două subtipuri : millardeismul și mendelismul.

*Millardeismul,* denumit astfel după numele savantului francez *A. Millardet,* care l-a descoperit studiind hibrizii dintre cîteva specii de fragi, constă în aceea că în descendență apar numai caracterele unui genitor, ca și cum încrucișarea n-ar fi avut loc. De altfel, însuși Millardet a numit acest tip de ereditate „hybridation sans croisement". Atunci cînd domină caracterele tatălui avem de-a face cu fenomenul de ereditate absorbantă paternă, iar cînd domină caracterele mamei, cu ereditate absorbantă maternă.

Un exemplu de *ereditate absorbantă maternă* îl constituie hibrizii obținuți de A. Millardet între vița de vie cultivată *(Vitis vinifera)* și vița sălbatică *(Ampelopsis hederacea).* La toate cele 33 de plante hibride nu au apărut decît caracterele viței de vie cultivate care a servit la încrucișare ca formă maternă.

Fenomenul eredității absorbante materne a fost observat de *I. V. Miciurin* la hibrizii dintre crinul cu flori galbene *(Lilium szovitsianum)* și crinul cu flori roșii *(Lilium Thunbergianum).* În cursul mai multor generații nu au apărut decît plante cu caractere materne, adică ale crinului galben, ca și cum n-ar fi avut loc încrucișarea. Cercetările lui I. V. Miciurin au arătat că plantele obținute erau cu adevărat hibride, deoarece în generația a treia au apărut mai mulți indivizi ce prezentau difertie abateri, din care apoi, prin selecție, a fost obținut crinul violet.

Un alt exemplu de ereditate absorbantă maternă îl constituie hibrizii dintre vișinul de nisip (♀) și piersic (♂), obținuți de către P. N. Iakovlev (1939). Acesta a polenizat florile de vișin de nisip cu polen de la piersic și a constatat că la hibrizii din $F_1$ nu apar decît caracterele materne. La prima înflorire, o parte din florile hibridului au fost din nou polenizate cu polen de piersic și din nou nu au apărut

la hibrizi decît caracterele și însușirile plantei materne. Operația a fost repetată de 5 ori și numai în acest caz unele caractere paterne au apărut la două plante.

*Fenomenul eredității absorbante paterne* se întîlnește relativ mai rar decît cel al eredității absorbante materne. Cu toate acestea, pînă în prezent au fost descrise mai multe cazuri, cînd la diferitele generații hibride au dominat exclusiv caracterele și însușirile paterne. Astfel, doi cercetători americani, G. Collins și J. Campton (1940), au constatat că la hibrizii îndepărtați dintre *Tripsacum dactyloides* L. și *Euchlaena mexicana* Schrad, fenomenul segregării lipsește, în descendență neapărînd decît caracterele paterne.

Un alt caz de ereditate care se exclude reciproc este *mendelismul.* Spre deosebire de millardeism, la care în diferitele generații hibride domină exclusiv caracterele unui genitor, în cazul mendelismului, în prima generație domină caracterele unui părinte, iar în generația a doua se produce segregarea, astfel că reapar caracterele ambilor genitori. K. A. Timireazev a denumit acest tip de ereditate mendelism, după numele lui Gregor Mendel, care a făcut cunoscutele experiențe de încrucișare la mazăre. De fapt, deosebirea dintre fenomenul de millardeism și cel de mendelism apare numai în generația a doua, în care în primul caz nu se produce segregarea, iar în al doilea caz segregarea are loc.

La animale cercetări experimentale pentru obținerea de hibrizi au fost începute relativ tîrziu. În anul 1683, A. Leuwenhoeck comunică rezultatele obținute din încrucișarea iepurelui de casă (♀), de culoare albă, neagră sau albastră, cu iepurele de cîmp (♂), de culoare gri. În toate experiențele sale, descendența moștenea culoarea iepurelui de cîmp, care era dominantă. O dată cu dezvoltarea creșterii animalelor în secolele al XVIII-lea și al XIX-lea, are loc un proces de intensificare a cercetărilor privind hibridarea sexuată la animale în vederea creării de rase noi mai productive. Ch. Darwin citează în *Originea speciilor* diferite cercetări de hibridare sexuată la animale, considerînd însă că: „În ceea ce privește animalele, s-au făcut experiențe mult mai puțin precise decît cu plantele". Personal, Ch. Darwin a făcut încrucișări între diferite rase de porumbei, constatînd, printre altele, că uneori apar la hibrizi caracterele strămoșului îndepărtat, adică ale porumbelului de stîncă *(Columba livia).*

În cea de-a doua jumătate a secolului al XIX-lea și în secolul al XX-lea s-au dezvoltat mult cercetările privind hibridarea sexuată la animale, mai ales în vederea creării de rase noi la speciile domestice. De asemenea, s-au extins cercetările cu caracter teoretic general îndeosebi la unele specii, ca, de pildă, musculița de oțet *Drosophila melanogaster,* care înmulțindu-se foarte repede și fiind ușor de crescut în laborator constituie un obiect de cercetare foarte potrivit.

Spre deosebire de plante, la animale prin împerecherea unor indivizi din specii diferite se obțin *hibrizi,* iar operația se numește *hibridare,* în timp ce prin împerecherea unor indivizi de rase sau varietăți

diferite aparținînd la aceeași specie se obțin *metiși,* iar operația se cheamă *metisare.* Această împărțire are într-o anumită măsură un caracter artificial, deoarece prin hibrid, în sensul adoptat în prezent în genetică, se înțelege organismul provenit prin încrucișarea unor genitori cu genotipuri diferite.

## METODE DE HIBRIDARE SEXUATĂ

*Hibridarea sexuată* sau încrucișarea este operația prin care se unesc pe cale sexuată organisme cu genotipuri diferite, iar *hibridul sexuat* este organismul rezultat. Organismele care iau parte la formarea unui hibrid sexuat pot aparține la diferite mutante, soiuri, rase, linii consangvinizate, varietăți, specii, genuri etc. În procesul sexual are loc unirea celor doi gameți materni și paterni, rezultînd în urma fecundării celula-ou sau zigotul.

Organismele care iau parte la hibridarea sexuată se numesc *părinți sau genitori* și se notează cu litera *P* sau *G.* Organismul-mamă se notează cu semnul (♀), iar organismul sau organismele-tată cu semnul (♂). Hibrizii rezultați, aparținînd diferitelor *generații hibride sau descendențe filiale,* se notează cu $F_1$ (generația întîi), $F_2$ (generația a doua), $F_3$ (generația a treia) etc. În prezent sînt cunoscute numeroase tipuri de hibridare sexuată la plante.

*Hibridarea sexuată naturală* se realizează fără intervenția omului, ea observîndu-se la plantele cu polenizare încrucișată (alogame) și mai rar la plantele autopolenizatoare (autogame). Pentru a evita hibridarea naturală între diferite soiuri de plante alogame, în practică se iau măsuri de izolare în spațiu a soiurilor respective sau alte măsuri adecvate, cum este, de pildă, polenizarea sub izolator.

*Hibridarea sexuată artificială* se realizează prin intervenția omului. În funcție de metoda folosită, hibridarea artificială poate fi forțată, semiliberă sau liberă.

*Hibridarea forțată* este metoda de hibridare în care florile unei forme materne sînt forțate să se polenizeze cu polenul unei forme sau mai multor forme-tată. Această metodă se aplică atît la plantele autogame cît și la cele alogame.

*Hibridarea semiliberă sau limitat liberă* constă în aceea că polenizarea florilor castrate și izolate nu se face direct cu polen, ci se aduc mai multe inflorescențe de la planta sau plantele-tată și se introduc sub izolator, astfel că polenizarea se face în condiții seminaturale.

*Hibridarea liberă* la plantele autogame și alogame constă în aceea că florile castrate ale formei-mamă se polenizează liber cu polenul uneia sau mai multor forme paterne. Polenizarea se realizează în mod natural cu ajutorul vîntului (anemofilă) sau insectelor (entomofilă).

Scanned with OKEN Scanner

*Hibridarea apropiată sau intraspecifică* este o metodă ce constă în încrucișarea între forme apropiate din punct de vedere sistematic, cum sînt : soiurile, rasele, varietățile și subspeciile din cadrul aceleiași specii.

*Hibridarea îndepărtată sau interspecifică* este metoda prin care se efectuează încrucișarea între specii aparținînd aceluiași gen sau la genuri diferite.

*Hibridarea simplă* este metoda de încrucișare în care la formarea hibridului participă numai două soiuri sau linii consangvinizate. Schematic, această metodă de hibridare poate fi reprezentată astfel : $A♀ \times B♂$.

*Hibridarea dublă* constă în încrucișarea a doi hibrizi simpli în $F_1$. Schematic, hibridarea dublă poate fi reprezentată astfel :

$$(A \times B)♀ \times (C \times D)♂$$

Această metodă se folosește în special pentru crearea de hibrizi dubli între linii consangvinizate de porumb.

*Hibridarea complexă* este încrucișarea unei forme materne cu un amestec de polen de la mai multe forme paterne. Schematic, acest tip de hibridare poate fi reprezentat astfel :

$$A♀ \times (B + C + D + E + \ldots.)♂$$

Uneori, dintre formele paterne poate face parte și forma maternă, în care caz schema hibridării este următoarea :

$$A♀ \times (A + B + C + D + \ldots.)♂$$

Prin hibridarea complexă se mai înțelege încrucișarea unui hibrid dublu cu unul simplu, încrucișarea a doi hibrizi dubli și în general încrucișarea la care participă un număr mare de genitori. Schematic, încrucișarea între un hibrid dublu și unul simplu se poate reda astfel :

$[(A \times B) \times (C \times D)]♀ \times (E \times F)♂$, iar între doi hibrizi dubli :

$$[(A \times B) \times (C \times D)]♀ \times [(E \times F) \times (G \times H)]♂.$$

*Hibridarea repetată* sau *retroîncrucișarea* (backcross) este încrucișarea unui hibrid o dată sau de mai multe ori cu unul dintre genitori. Schematic, acest tip de hibridare poate fi reprezentat astfel : $(A \times B)♀ \times A♂$ sau $(A \times B)♀ \times B♂$, iar în caz că retroîncrucișarea se repetă :

$$[(A \times B) \times A]♀ \times A♂ \text{ sau } [(A \times B) \times B]♀ \times B♂.$$

*Hibridarea reciprocă* constă din încrucișarea a doi genitori, care servesc pe rînd ca forme materne și paterne. Schematic, acest tip de hibridare se prezintă astfel : $A♀ \times B♂$ și $B♀ \times A♂$. Hibrizii reciproci nu sînt identici, deoarece în procesul hibridării nu este indiferent care formă este mamă și care este tată. Metoda hibridării reciproce

se folosește mai ales la hibridarea îndepărtată, unde hibridarea nu reușește decît folosind un anumit genitor ca formă maternă și pe celălalt ca formă paternă.

*Hibridarea dialelă* constă din executarea tuturor încrucișărilor posibile dintre soiurile sau liniile consangvinizate ce alcătuiesc o grupă. De pildă, dacă grupa este alcătuită din patru soiuri : *A, B, C, D*, între ele se pot efectua următoarele încrucișări : $A \times B$, $A \times C$, $A \times D$, $B \times C$, $B \times D$ și $C \times D$. Numărul de încrucișări posibile într-o grupă de patru soiuri sau linii consangvinizate se calculează astfel: $\frac{4 \times 3}{2} = 6$ sau, în general, $\frac{n\,(n-1)}{2}$. Dacă se efectuează și încrucișările reciproce, formula devine $n\,(n-1)$.

La animale, în linii mari, se folosesc aceleași metode de încrucișare ca și la plante. Există însă și unele metode speciale de încrucișare, pentru obținerea de animale ce manifestă heterozis, cum sînt : *încrucișarea industrială, încrucișarea alternativă, încrucișarea între linii consangvinizate* etc. sau pentru ameliorarea raselor, ca, de pildă : *încrucișarea de absorbție, încrucișarea de infuzie, încrucișarea interspecifică* etc.

*Încrucișarea de absorbție* este o metodă care se folosește atunci cînd se urmărește ameliorarea raselor locale de la diferite specii domestice, deoarece ele nu mai satisfac necesitățile. Pentru aceasta, femelele din rasa locală se încrucișează cu masculi dintr-o rasă amelioratoare, cu calități superioare. Femelele metise din prima generație ($F_1$) se selecționează, cele mai bune exemplare încrucișîndu-se din nou cu masculi din rasa amelioratoare. Desigur că în acest scop se folosesc alți masculi, pentru a nu se produce fenomenul consangvinizării. Cu metișii din generația a doua se procedează la fel, adică femelele se selecționează și exemplarele mai bune se încrucișează din nou cu masculi din rasa amelioratoare. În felul acesta se realizează modificarea eredității rasei locale, cu productivitate scăzută, înspre rasa amelioratoare, cu productivitate ridicată.

*Încrucișarea de infuzie* este o metodă prin care se urmărește îmbunătățirea unei rase care are unele defecte ce trebuie corectate. În acest scop se împerechează femelele din această rasă cu masculi dintr-o altă rasă, care posedă tocmai calitățile a căror dezvoltare este urmărită la prima rasă. Metișii obținuți sînt folosiți pentru reproducție în cadrul rasei inițiale, astfel că prin această încrucișare se realizează corectarea defectelor respective sau dezvoltarea unei anumite calități la întreaga rasă.

*Încrucișarea interspecifică* este metoda prin care se hibridează specii diferite, aparținînd aceluiași gen sau chiar la genuri diferite. De multe ori însă, hibridarea interspecifică este foarte dificilă, pe de o parte, datorită imposibilității încrucișării, iar pe de altă parte, din cauza sterilității hibrizilor.

Scanned with OKEN Scanner

## HETEROZISUL

În timp ce consangvinizarea reduce vitalitatea plantelor și animalelor, prin încrucișare se obțin organisme care manifestă *vigoare hibridă*, fenomen care a primit numele de *heterozis*.

*Prin heterozis se înțelege în ultimă analiză o vitalitate mai mare a descendenței din $F_1$ comparativ cu genitorii.* De multă vreme oamenii și-au pus întrebarea care sînt cauzele pentru care unele organisme au o vitalitate mai mare și altele mai redusă, sau care este însăși cauza activității vitale a organismelor? Problema vitalității organismelor a stîrnit interesul încă din antichitate, elaborîndu-se chiar unele teorii pentru a explica acest fenomen. O astfel de teorie este *vitalismul* care explică activitatea biologică a organismelor ca fiind provocată de prezența în organism a unei forțe imateriale, așa-numita „forță vitală" *(vis vitalis)*. Această explicație are un caracter eronat, idealist, fapt pentru care ea n-a fost acceptată.

Filozoful grec Aristotel (384—322 î.e.n.) susținea că organismele vii au o tendință internă spre perfecționare, tendință determinată de existența sufletului, care, ca forță motrice a activității biologice, a fost denumită de el „entelechie". De la Aristotel și pînă azi au apărut nenumărate *teorii vitaliste*, care în fond reiau ideea despre „entelechie" într-o formă sau alta. Astfel, Paracelsus (1493—1541) vorbește despre „spiritul vieții", Van Helmont (1577—1644) despre „principiul vital", iar G. Stahl (1660—1734) despre „spirit". Mai recent a apărut o altă variantă a vitalismului, cunoscut sub denumirea de „neovitalism". Această nouă variantă a vitalismului a fost îmbrățișată de o seamă de biologi și filozofi idealiști, ca: *Reincke, Uexküll, Driesch, Francé* etc., care susțin că, în urma noilor descoperiri din biologie, activitatea vitală, unitatea și integritatea organismelor, nu poate fi explicată decît cu ajutorul unei forțe vitale deosebite, pe care ei o denumesc „dominantă", „cîmp biologic" etc. Cercetările moderne de fiziologie animală și genetică privind rolul conducător al sistemului nervos central în reglementarea proceselor vitale ale animalelor superioare și mecanismul genetic al heterozisului dau o explicație științifică, materialistă, unității organismului și prin aceasta dezmint erorile neovitalismului. În fond, între vitalismul clasic și neovitalism nu este o deosebire principială. Neovitalismul constituie o încercare de reînviere a teoriilor vitaliste, teorii care au fost îndepărtate din știință o dată cu dezvoltarea biologiei moderne.

Orientarea materialistă în problema activității vitale a organismelor a fost reprezentată în antichitate de filozofii materialiști Heraclit din Efes (aproximativ 540—480 î.e.n.), Democrit (aproximativ 460—370 î.e.n.), Epicur (341—270 i.e.n.) etc., care considerau că viața organismelor nu se datorește nici unei forțe străine supranaturale, ci este de natură materială.

Scanned with OKEN Scanner

În evul mediu au dominat concepţiile mistico-idealiste despre viaţă, atît din cauza condiţiilor social-economice cît şi datorită faptului că biserica se opunea cu tărie dezvoltării unor concepţii materialiste despre activitatea vitală a organismelor. De-abia în timpul Renaşterii situaţia a început să se schimbe şi treptat s-au acumulat fapte care veneau în contradicţie cu vitalismul. Astfel, W. Harvey (1578—1657), deşi adept convins al vitalismului, descoperind circulaţia sîngelui, a dat o lovitură puternică teoriilor vitaliste care susţineau existenţa în organisme a unei „forţe de pulsaţie".

Materialiştii francezi din secolul al XVII-lea iau atitudine împotriva teoriilor vitaliste şi în special împotriva concepţiilor clericale despre suflet. Ei dau o explicaţie mecanicistă procesului vieţii, aşa cum face, de exemplu, J. La Mettrie (1709—1751) în lucrarea sa *Omul-maşină*. În această lucrare, La Mettrie aseamănă organismul uman cu o maşină foarte complicată, încercînd să explice fenomenele vitale din corpul omenesc prin legi mecanice.

O lovitură puternică a fost dată teoriilor vitaliste prin descoperirea în prima jumătate a secolului al XIX-lea a sintezei substanţelor organice din substanţe anorganice. Adepţii vitalismului susţineau, mai ales în secolul al XVIII-lea, că nu este posibilă sinteza substanţelor organice care alcătuiesc corpul viu fără o „forţă vitală" specială. Chimistul german F. Wöhler (1800—1882) a sintetizat în anul 1824, pentru prima oară în lume, o substanţă organică — ureea — pornind de la substanţe anorganice. După aceea au fost elaborate metode de sinteză a unui număr imens de substanţe organice din ce în ce mai complexe.

J. B. Lamarck (1744—1829) a dat, de asemenea, o explicaţie materialistă mecanicistă fenomenelor vitale. El susţinea că izvorul activităţii vitale a organismelor se află în însăşi natura lor, nefiind determinat de forţe imateriale. În natură ar exista însă aşa-numitele „fluide", cum sînt căldura, electricitatea etc., răspîndite pretutindeni şi care ar avea posibilitatea să pătrundă cu uşurinţă în organismele vii, determinînd activitatea lor vitală.

Ch. Darwin (1809—1882), deşi nu s-a ocupat în mod special de problema forţelor care determină activitatea vitală a organismelor, totuşi, prin teoria sa despre dezvoltarea naturii vii, a dat o lovitură puternică vitalismului, arătînd că organismele actuale sînt rezultatul unui lung proces de evoluţie, proces natural şi material, în care nu este loc pentru „forţe vitale" speciale. Lui Darwin i-a revenit meritul de a fi descoperit legea utilităţii biologice a încrucişării, „marea lege a naturii", cum o numea el, şi care constă în avantajul care rezultă pentru descendenţă din unirea în procesul fecundării a unor celule sexuale diferenţiate.

Esenţa activităţii vitale a organsimelor constă în procesul de metabolism, care se realizează pe calea asimilaţiei şi dezasimilaţiei. F. Engels, referindu-se la această trăsătură fundamentală a organismelor vii, scria : „Viaţa, modul de existenţă a corpului albuminoid constă deci înainte de toate în aceea că în fiecare moment corpul este el însuşi şi totodată altul ; şi aceasta nu în urma unui proces căruia i-ar fi supus din exterior,

Scanned with OKEN Scanner

ceea ce se poate întîmpla și corpurilor moarte. Dimpotrivă, viața, schimbul de substanțe care are loc prin nutrire și eliminare, este un proces care se efectuează prin sine însuși, un proces inerent, înnăscut purtătorului său, albumina, fără de care aceasta nu poate exista" *.

Cea mai generală caracteristică a organismelor vii, adevărate sisteme cu autoreglare, este schimbul permanent de substanțe cu mediul înconjurător, adică metabolismul, fenomen care permite autoconservarea sistemului. Organismele vii sînt și rămîn vii numai în anumite condiții de mediu, în prezența cărora ele își pot desfășura metabolismul, care are două laturi : asimilația și dezasimilația. În procesul asimilației, organismele vii transformă substanțele minerale și organice nevii pe care le iau din exterior în substanțe proprii, adică în materie vie. Dezasimilația este procesul opus asimilației, prin care are loc transformarea continuă a materiei vii în materie nevie, iar produsele de descompunere sînt eliminate în mediul înconjurător. Din unitatea și lupta acestor laturi, una cu acțiune formatoare, cealaltă cu acțiune destructivă, rezultă activitatea vitală a organismelor.

La majoritatea organismelor actuale, contradicțiile interne care determină vitalitatea se creează în procesul fecundației, prin care se unesc gameți relativ heterogeni, astfel că noului organism care ia naștere îi sînt proprii contradicțiile existente între gameți.

Botanistul rus I. Koelreuter a descoperit în anul 1763 faptul că hibrizii din prima generație între speciile *Nicotiana rustica* și *N. paniculata* au o vigurozitate mai mare decît a genitorilor. După aceea, fenomenul a fost observat de diferiți cercetători, care însă nu au reușit să-i dea o explicație satisfăcătoare. Ch. Darwin, în urma a numeroase experiențe care l-au dus la elaborarea lucrării sale *Efectele fecundării încrucișate și ale autofecundării în regnul vegetal* (1876), a formulat legea utilității biologice a încrucișării și nocivitatea autofecundării.

Fenomenul prin care hibrizii manifestă o vitalitate sporită a fost denumit de către Ch. Darwin *vigoare hibridă,* el nefiind decît una dintre formele de manifestare a legii utilității biologice a încrucișării. Rezultatele pozitive obținute în urma încrucișării „...nu sînt urmare unei forțe misterioase, provenită din unirea a doi indivizi diferiți, ci a faptului că în cursul generațiilor precedente, indivizi asemănători au fost supuși influenței unor condiții diferite sau urmarea faptului că ei s-au modificat pe o cale denumită, de obicei, arbitrară ; așadar, și într-un caz și în celălalt, elementele lor sexuale au trebuit să sufere o oarecare diferențiere" **. Ch. Darwin explică deci vigoarea hibridă prin unirea în procesul fecundației a unor celule sexuate heterogene, aparținînd la organisme neînrudite.

La începutul secolului al XX-lea, cercetări vaste privind vigoarea hibridă la plante și în special la porumb au fost executate în S.U.A. de

---

* F. Engels, *Anti-Dühring,* București, Editura de Stat pentru Literatură politică, 1955, p. 95.

** Ch. Darwin, *Socinenia,* vol. 6, 1950, p. 610.

Scanned with OKEN Scanner

către E. M. East (1908), G. H. Shull (1909) și D. F. Jones (1917). Astfel, G. H. Shull a efectuat consangvinizarea unor plante de porumb, și apoi liniile obținute, caracterizate printr-o vitalitate foarte scăzută, au fost încrucișate reciproc. La hibrizi s-a constatat o mare vigurozitate, care a depășit apreciabil nu numai liniile consangvinizate care au luat parte la hibridare, ci și soiul inițial din care fuseseră obținute aceste linii. Vigoarea sporită a hibrizilor a mai fost constatată de G. H. Shull și la alte plante : *Oenothera lamarckiana, Capsella grandiflora, Helianthus annuus* etc. De pildă, hibrizii din cadrul speciei *Oenothera Lamarckiana* au fost cultivați într-un sol foarte sărac, alături de genitori. S-a constatat că în timp ce plantele-părinți nu au reușit să se dezvolte normal datorită condițiilor defavorabile, hibrizii s-au dezvoltat viguros, ca și cum ar fi fost crescuți pe un sol bogat. Prin încrucișarea între un soi cultivat de floarea soarelui cu o formă sălbatică s-au obținut hibrizi care aveau o înălțime care ajungea la 4,35 m, în vreme ce înălțimea genitorilor nu depășea 1,80 m. Pe baza acestor cercetări multilaterale, S. H. Shull a propus în anul 1914, într-o lecție ținută la Universitatea din Gettingen, ca fenomenul de sporire a vitalității hibrizilor în $F_1$ să fie denumit heterozis.

Iată cum definește G. H. Shull *fenomenul heterozis :* „Eu înțeleg sub acest termen o mărire a vigurozității, dimensiunilor, productivității, o dezvoltare rapidă, rezistență față de boli și insecte dăunătoare sau față de diferite condiții nefavorabile, care deosebesc formele hibride de formele consangvinizate corespunzătoare și care iau naștere ca un rezultat specific al unirii gameților genitorilor diferențiați genetic“ *. Apariția fenomenului heterozis este explicată de către G. H. Shull astfel : „Cu alte cuvinte, caracterul hibrid — adică unirea unor elemente neasemănătoare, starea de heterozigotism — exercită, după părerea mea, o influență stimulatoare asupra activității fiziologice a organismelor“ **.

O explicație similară a fost dată de către genetiștii E. M. East și H. K. Hayes : „Micșorarea vigurozității plantelor — scriau ei — ca rezultat al consangvinizării la speciile care în mod natural se polenizează încrucișat și mărirea vigurozității datorită încrucișării speciilor autogame sînt fenomene de același ordin. Acest fenomen este heterozigotismul. Încrucișarea creează heterozigotism în ceea ce privește toate caracterele prin care se deosebesc genitorii. Consangvinizarea duce în mod automat la homozigotism“ ***.

Prin unirea în procesul fecundării a unor gameți diferențiați din punct de vedere genetic, morfologic, fiziologic sau biochimic, are loc formarea unui organism la care contradicția inițială care determină vitalitatea sa este accentuată și ca urmare are loc o intensificare a meta-

---

* G. H. Shull, *Vozniknovenie konțepții gheterozisa*, din vol. „Ghibridnaia kukuruza“, Moskva, 1955, p. 70—71.

** Citat după F. Richey, *Selekția kukuruzî*. Din vol. „Ghibridnaia kukuruza“, Moskva, 1955, p. 117.

*** Citat după H. Hayes, *Razvitie predstavlenie o gheterozise*, din vol. „Ghibridnaia kukuruza“, Moskva, 1955, p. 73—74.

Scanned with OKEN Scanner

bolismului. În cazul hibridării sexuate se unesc în procesul fecundării gameți provenind de la linii consangvinizate, soiuri, varietăți sau specii diferite. Între acești gameți există deosebiri uneori destul de însemnate, de ordin mai ales genetic. Ca urmare, vitalitatea hibrizilor din $F_1$ sporește considerabil, adică apare fenomenul heterozis. Relativ rar, fenomenul heterozis nu se manifestă la hibrizi, pentru că în procesul fecundării se unesc gameți insuficient diferențiați din punct de vedere biologic și ca urmare are loc o reducere a vitalității. Pentru aceasta se recomandă alegerea perechilor care se încrucișează, alegere bazată pe cunoașterea genotipică a organismelor respective. Scăderea vitalității poate apărea la hibrizii sexuați din prima generație ($F_1$) în cazul hibridării interspecifice, cînd are loc o tulburare profundă a metabolismului organismelor hibride, care se concretizează prin apariția sterilității totale sau parțiale și prin inexistența heterozisului.

## MECANISMUL GENETIC AL HETEROZISULUI

Pentru a explica *mecansimul genetic al heterozisului*, au fost elaborate mai multe teorii. Astfel *teoria superdominanței* pornește de la premisa că dacă genitorii homozigoți se deosebesc între ei, printr-o pereche de caractere alelomorfe (*a a* și *a' a'*), atunci hibridul care este heterozigot (*a a'*) datorită interacțiunii între caracterele respective poate fi superior ambilor genitori. Astfel, dacă genitorii se notează în mod arbitrar cu valorile 1 și 5, atunci există următoarele posibilități de manifestare a caracterelor respective :

0 heterozis
1 genitorul *a a* (dominanță completă)
2 dominanță parțială
3 lipsă de dominanță
4 dominanță parțială
5 genitorul *a' a'* (dominanță completă)
6 heterozis

Deci heterozisul apare în cazul superdominanței cînd hibridul depășește unul sau altul dintre genitori în exprimarea caracterului respectiv.

*Teoria dominanței* pornește de la premisa că dacă unul dintre genitori se deosebește de celălalt prin mai multe perechi de caractere alelomorfe (*A A b b C C d d* și *a a B B c c D D*), în organismul hibrid se pot acumula caracterele dominante favorabile (*A a, B b, C c, D d*).

În ceea ce privește conservarea heterozisului în generațiile următoare, este evident că în ipoteza superdominanței heterozisul nu poate fi păstrat prin autofecundare. În cazul ipotezei dominanței ar trebui ca în generațiile următoare să reapară tipul heterozigot și ca urmare să se

Scanned with OKEN Scanner

manifeste fenomenul heterozis. În realitate însă, acest fenomen nu se manifestă din cauză că dacă genitorii se deosebesc între ei prin $n$ perechi de caractere, frecvența organismelor homozigote dominante în $F_2$ este $\left(\frac{1}{4}\right)^n$ sau $(0,25)^n$, iar frecvența fenotipurilor dominante este $\left(\frac{3}{4}\right)^n$ sau $(0,75)^n$. Frecvența teoretică a organismelor cu caractere dominante în aceste două cazuri este următoarea :

| Numărul de perechi de caractere independente $n$ | $(0,25)^n$ | $(0,75)^n$ |
|---|---|---|
| 10 | $0,95 \times 10^{-6}$ | $0,17 \times 10^{-4}$ |
| 20 | $0,91 \times 10^{-12}$ | $0,29 \times 10^{-9}$ |
| 30 | $0,87 \times 10^{-18}$ | $0,48 \times 10^{-14}$ |

Din aceste date se poate trage concluzia că, chiar în cazul mai favorabil cînd genitorii se deosebesc prin numai 10 perechi de caractere, frecvența tipurilor respective este în afara probabilității curente. Fenomenul păstrării heterozisului la un număr foarte redus de indivizi în $F_2$ și în generațiile următoare se numește *transgresiune*. Partea slabă a teoriei dominanței constă în faptul că nu poate explica de ce nu este posibilă fixarea heterozisului, deoarece în conformitate cu cele susținute ar trebui să apară în urma segregării organisme cu caractere dominante de tipul AA BB CC DD.

G. H. Shull și E. M. East au elaborat teoria *heterozigoției* sau *teoria stimulării*, conform căreia vitalitatea mai mare a hibrizilor din $F_1$ se datorește stării heterozigote. Ca urmare, în cazul homozigoției produse prin consangvinizare, vitalitatea se reduce, în timp ce prin hibridare, mai ales în cazul unor genitori deosebiți printr-un număr mai mare de gene alele, vitalitatea crește considerabil. Pe baza acestei teorii E. M. East a elaborat ulterior — în 1936 — *teoria alelomorfismului multiplu*, conform căreia în cazul unor gene polialele de tipul $a_1$, $a_2$, $a_3$, $a_4$, $a_5 \ldots a_n$ sau $b_1$, $b_2$, $b_3$, $b_4$, $b_5 \ldots b_n$, heterozisul cel mai puternic se manifestă în cazul prezenței unor gene mai depărtate din seria polialelă. De pildă genele $a_1$, $a_2$ sau $b_1$, $b_2$ determină un efect heterozis mai redus ca genele $a_1$, $a_5$ sau $b_1$, $b_5$.

*Teoria echilibrului genetic*, elaborată de K. Mather în 1943, susține în esență că heterozisul se datorează echilibrului dintre plusgenele ce influențează în mod pozitiv un caracter și minusgenele ce influențează negativ caracterul respectiv. Prin consangvinizare echilibrul genetic al populației se modifică datorită acumulării minusgenelor ce provoacă de-

presiunea biologică, în timp ce prin hibridare echilibrul genetic se restabilește datorită acumulării plusgenelor cu acțiune favorabilă. Această teorie a fost reluată recent de N. V. Turbin (1961), care a încercat să-i dea un suport matematic mai substanțial.

*Teoria polimorfismului balansat,* elaborată de T. Dobjanski, susține că fenomenul heterozis se datorește realizării unui polimorfism balansat la nivelul populației hibride. Astfel într-o populație panmictică există atît organisme homozigote de tipul *A A* și *a a,* precum și organisme heterozigote de tip *A a,* care se mențin într-o anumită proporție prin selecție naturală. De pildă, la porumb s-a calculat că dacă pe fiecare dintre cei 10 cromozomi ar exista numai cîte trei gene (la cele două capete și la mijloc) care manifestă un linkage redus, aceasta înseamnă că o plantă heterozigotă pentru cele 30 gene nu poate da naștere la un individ homozigot pentru toate aceste gene decît cu o probabilitate foarte redusă de $4^{30}$. Aceasta înseamnă că pentru obținerea unui singur individ homozigot ar fi necesară după calculele lui W. R. Singleton (1964) cultivarea cu porumb a unui teren reprezentînd de 2 000 ori suprafața pămîntului.

Un exemplu foarte interesant de *polimorfism balansat letal* a fost descris la *Drosophila melanogaster.* La această insectă există indivizi hibrizi *Curly Lobe Plum* care nu pot trăi decît în stare heterozigotă *(Cy + + L/ + Pm +).* Gena *Curly (Cy)* este dominantă, și ea determină ca musculița să prezinte aripi îndoite în sus, gena *Lobe (L)* este, de asemenea, dominantă și ea face ca ochii să aibă o formă lobată, iar gena *Plum (Pm)* dominantă determină o culoare brunie a ochilor. Toate cele trei gene sînt plasate pe cromozomul II, în care există două inversii care împiedică crossing-overul. Ambele tipuri de musculițe homozigote sînt letale *(Cy + + L/Cy + L* și *+ Pm +/+ Pm +).* Indivizii heterozigoți formează două tipuri de gameți, prin a căror unire pe bază de probabilitate se obțin organisme homozigote letale care pier și heterozigote care trăiesc. În felul acesta se păstrează în fiecare generație numai indivizii heterozigoți.

| ♀ \ ♂ | *Cy + L* | *+ Pm +* |
|---|---|---|
| *Cy + L* | $\frac{Cy + L}{Cy + L}$ 25% | $\frac{+ Pm +}{Cy + L}$ 25% |
| *+ Pm +* | $\frac{Cy + L}{+ Pm +}$ 25% | $\frac{+ Pm +}{+ Pm +}$ 25% |

Importanța biologică deosebită a heterozisului pentru existența speciilor a determinat apariția diferitelor tipuri de reproducere sexuată: sexe separate pe indivizi diferiți, organisme hermafrodite autosterile,

deosebiri cromozomiale între masculi și femele, existența femelei diploide și a masculului haploid etc.

Datorită faptului că la majoritatea animalelor sexele sînt separate pe indivizi diferiți, păstrarea unui anumit grad de heterozigoție nu este dificilă. Din contră, la plante, unde majoritatea speciilor sînt hermafrodite sau unisexuat-monoice, există o seamă de adaptări care asigură fecundarea încrucișată. La plantele unisexuat-monoice, cum sînt : porumbul, pepenele, dovleacul etc., florile mascule și cele femele sînt așezate în părți diferite ale plantei, astfel că șansele fecundării cu polen propriu se reduc.

Plantele cu flori hermafrodite prezintă, de asemenea, diferite adaptări în vederea polenizării încrucișate. Astfel, la secară și într-o anumită măsură la sfecla de zahăr, autofecundarea nu este posibilă, deoarece polenul nu germinează bine pe stigmatul propriu sau chiar dacă germinează fecundarea nu are loc decît într-o proporție foarte redusă. La unele plante cu flori hermafrodite se observă fenomenul *heterostiliei.* Hrișca, de exemplu, prezintă două tipuri de flori : un tip cu pistilul scurt și filamentele staminelor lungi și un alt tip cu pistilul lung și staminele scurte. Pentru ca fecundarea să aibă loc în condiții bune, este necesar să se unească gameții de pe tipuri diferite de plante (fecundarea legitimă). Dacă fecundarea are loc între gameții aceluiași tip de plantă (fecundarea nelegitimă), numărul de semințe care se formează este foarte redus. De regulă, în natură are loc fecundarea legitimă, prin care se formează semințe în proporție de 70—80%, în timp ce prin fecundarea nelegitimă se formează numai 15—20% semințe.

Atît la plantele unisexuat monoice cît și la cele hermafrodite, adesea se observă că gameții masculi și cei femeli de pe aceeași plantă sau din aceeași floare ajung la maturitate la epoci diferite, astfel că fecundarea cu polen propriu nu este posibilă. La porumb, de pildă, florile mascule ajung la maturitate cu cîteva zile înaintea celor femele. Acest fenomen poartă numele de *protandrie.* La alte plante, cum este, de exemplu, sfecla de zahăr, organele sexuate femele ajung la maturitate înaintea celor mascule, deși ele se află în aceeași floare. Acest fenomen se numește *protoginie.*

Cu toate acestea, în lumea plantelor există o grupă importantă de specii autogame (grîul, orzul, tomatele, tutunul etc.) care sînt bine adap-

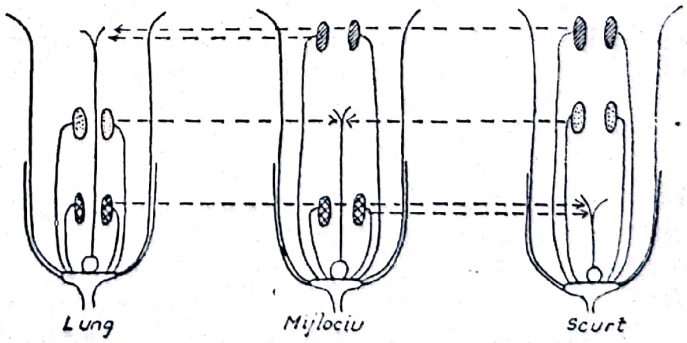



Fig. 94. Fenomenul heterostiliei la plante (după Dawson, 1962).

tate la autopolenizare, care constituie cea mai strictă formă de consangvinizare. Ca urmare, la aceste specii mutațiile dăunătoare atît dominante cît și recesive sînt eliminate la fel de rapid, datorită faptului că organismele homozigote au o mare frecvență, iar cele heterozigote sînt rare. La plantele autogame în general prin autopolenizare strictă nu are loc o scădere apreciabilă a vitalității, după cum prin încrucișare nu apare un heterozis prea puternic. În unele cazuri însă — de pildă la tomate — prin încrucișarea între plante autogame se manifestă un heterozis puternic. Acest fenomen se poate explica prin faptul că aceste specii au fost la origine alogame și că adaptarea lor la autogamie este incompletă.

Deși la plantele autogame fecundația cu polen propriu este preponderentă, totuși, într-o anumită măsură, la aceste plante are loc polenizarea încrucișată. Încă Ch. Darwin a subliniat faptul că în natură nu există plante strict autogame și că la toate plantele de acest tip se observă din cînd în cînd fecundarea încrucișată. Fenomenul este pe deplin explicabil prin prisma legii utilității biologice a încrucișării.

## BAZELE BIOCHIMICE ȘI FIZIOLOGICE ALE HETEROZISULUI

În domeniul bazelor biochimice ale heterozisului s-au făcut relativ puține cercetări și sînt încă multe aspecte de lămurit. Printre primele cercetări în această direcție pot fi citate cele ale lui W. J. Robbins (1941) de la Grădina Botanică din New-York, care a studiat comparativ modul cum cresc rădăcinile a două soiuri de tomate Johannesfeuer, Red Currant și ale hibridului dintre ele, într-un mediu nutritiv la care se adăugau diferite suplimente de vitamine. S-a constatat că soiul Johannesfeuer nu are capacitatea să sintetizeze piridoxină, iar soiul Red Currant nu poate sintetiza nicotinamidă. Ca urmare, prin adăugarea acestor vitamine în mediul nutritiv, rădăcinile celor două soiuri creșteau mult mai bine. Hibridul dintre cele 2 soiuri creștea bine în absența celor 2 vitamine, astfel că el prezenta un avantaj important asupra ambilor genitori, avînd capacitatea de a sintetiza singur ambele vitamine. Dacă se notează cu litera *P* gena ce determină capacitatea de a sintetiza piridoxina și cu *p* alela ei recesivă, iar cu litera *N* capacitatea de a sintetiza nicotinamida și cu *n* incapacitatea sintezei acestei vitamine, se poate conchide că soiul Johannesfeuer are genotipul *N N p p*, iar Red Currant genotipul *n n P P*. Hibridul Johannesfeuer × Red Currant are în $F_1$ genotipul *N n P p*, adică cîte o alelă dominantă pentru fiecare locus. În $F_2$ are loc segregarea după fenotip în proporție de 9 *N P* : 3 *N p* : 3 *n P* : 1 *n p*.

G. W. Beadle și V. L. Conradt (1944) au studiat o problemă similară la *Neurospora crassa*. După cum se știe, miceliul acestei ciuperci este multinucleat și dacă provine dintr-un singur ascospor el conține nuclei genetic identici. În cazul cînd micelii cu origini diferite cresc împreună, are loc o fuziune vegetativă a acestora și se realizează un schimb de nuclei. Ca urmare se formează un miceliu denumit *hete-*

Scanned with OKEN Scanner

*rocarion,* care conține în citoplasma unei singure celule mai mulți nuclei diferiți genetic. De obicei, acest heterocarion manifestă heterozis avînd o creștere mai rapidă și mai viguroasă decît a miceliilor cu nuclei genotipic identici. G. W. Beadle și V. L. Conradt au utilizat în cercetările lor două mutante de *Neurospora crassa,* din care prima e incapabilă să sintetizeze acidul nicotinic *(— nic),* dar putea sintetiza acidul pantotenic *(+ pan),* iar a doua sintetiza acidul nicotinic *(+ nic)* și nu sintetiza acidul pantotenic *(— pan).* Din această cauză, prima mutantă nu putea crește pe un mediu fără acid nicotinic, iar a doua pe un mediu fără acid pantotenic. De asemenea, cele două mutante nu puteau crește individual nici pe un mediu din care lipseau ambele vitamine. Dacă însă cele 2 mutante erau puse împreună pe un mediu din care lipseau ambele vitamine, se forma un heterocarion *(+ nic, + pan)* care creștea viguros pe mediul respectiv. Aceasta înseamnă că heterocarionul prezenta avantaje importante asupra ambelor mutante genitoare.

Referitor la *mecansimul fiziologic al heterozisului,* el nu este prea bine cunoscut. Cu toate acestea, pe baza unor cercetări privind diferitele procese fiziologice la genitori și la hibrizi, s-a ajuns la concluzia că organismele normale au un anumit *echilibru fiziologic* prin care se înțelege faptul că funcționarea lor depinde de un număr de procese interdependente și bine echilibrate. *Capacitatea organismelor de a-și păstra echilibrul fiziologic în condiții de mediu relativ variate se cheamă homeostazie.* În cazul heterozisului are loc o tulburare a echilibrului fiziologic datorită heterogenității gameților ce se unesc în procesul sexual. Din cauza homeostaziei însă, această tulburare a echilibrului fiziologic nu se poate păstra la descendenți care revin la normal.

Pe baza unor experiențe foarte interesante privind apariția heterozisului la hibrizii reciproci de *Drosophila melanogaster* crescuți la temperaturi diferite și a materialului experimental din literatura de specialitate, F. A. Lints (1962) explică mecanismul heterozisului ca fiind determinat de interacțiunea nucleu-citoplasmă și de condițiile de mediu. În cercetările sale, el a constatat că hibridul între rasele de *Drosophila melanogaster* Swedish — B ♀ Watou ♂ are o vitalitate mai mare ca a părinților și a hibridului reciproc la temperatura de 17°C, însă la temperatura de 25° și 30°C acest hibrid are o vitalitate redusă comparativ cu genitorii și hibridul reciproc. Hibrdiul Watou ♀ × Swedish B ♂ are vitalitate mai redusă ca genitorii și hibridul reciproc la 17°C, iar la 25° și 30°C este intermediar între genitori și superior hibridului reciproc.

F. A. Lints consideră că există trei nivele de heterozis, și anume :

*1. Heteroalelia,* care apare la încrucișarea între organisme ce se deosebesc printr-o pereche de caractere importante și în care heterozisul s-ar datora acumulării de elemente de tip *D.D.* (dominant-dominant) și *D.r.* (dominant-recesiv), în detrimentul tipului *r.r.* (recesiv-recesiv).

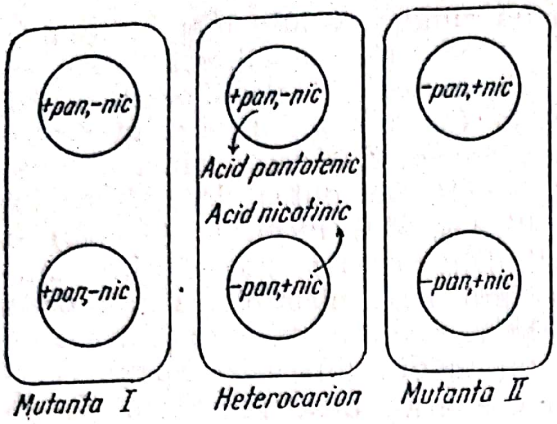



Fig. 95. Formarea heterocarionului la *Neurospora crassa.*

2. *Heterogenomia,* care apare la încrucișarea între organisme ce se deosebesc prin genomul lor, adică printr-un complex de caractere și însușiri.

3. *Heterocitomia,* care apare la nivelul interacțiunii nucleu-citoplasmă și care este de fapt tipul de bază în manifestarea heterozisului. Această afirmare se bazează mai ales pe cercetările privind fenomenul heterozis la hibrizii reciproci, la care o mare importanță o are organismul matern. Efectele interacțiunii nucleu-citoplasmă variază de la incompatibilitatea completă între gameți la un echilibru aproape total între nucleu și citoplasmă. O tulburare ușoară a echilibrului între nucleu și citoplasmă este aceea care are un efect stimulant și provoacă apariția heterozisului. Fenomenul heterozis produs prin heteroalelie și heterogenomie nu este decît un caz particular al heterozisului produs prin heterocitomie.

## DIFERITE TIPURI DE PĂSTRARE A HETEROZISULUI

Importanța biologică deosebită a fenomenului heterozis a determinat apariția — pe cale naturală și artificială — a diferite tipuri de păstrare a heterozisului la descendenți.

### Heterozisul permanent la Oenothera

La planta *Oenothera lamarckiana* există un heterozis permanent, menținut printr-un *sistem de gene letale balansate.* Studiile efectuate de geneticianul O. Renner au arătat că această plantă autogamă este heterozigotă pentru două grupe de gene denumite *gaudens* și *velans.* Genele din grupul *gaudens* determină culoarea verde a mugurilor, apariția de frunze late și pete roșii pe rozeta de frunze, în timp ce genele din grupul *velans* determină apariția de dungi roșii pe muguri, formarea de

frunze înguste și absența petelor roșii pe frunzele din rozetă. Prin autopolenizarea plantelor heterozigote se obțin următoarele tipuri de indivizi :

| ♀ \ ♂ | gaudens | velans |
|---|---|---|
| gaudens | gaudens-gaudens 25% | gaudens-velans 25% |
| velans | velans-gaudens 25% | velans-velans 25% |

Tipurile homozigote gaudens-gaudens și velans-velans care reprezintă 50% din descendență sînt letale și pier, fenomen pus în evidență prin aceea că aproximativ jumătate din ovule nu produc semințe. Ca urmare, numai tipurile heterozigote gaudens-velans, ce reprezintă jumătate din descendență, sînt viabile. În acest fel, planta *Oenothera lamarckiana* este un *hibrid permanent,* la care heterozisul se manifestă în fiecare generație.

Studiile citologice efectuate asupra acestei plante au arătat că toți cei 14 cromozomi formează un singur inel multivalent, sau la alte forme 12 cromozomi formează un astfel de inel, iar ceilalți 2 formează un bivalent în meioză. Ca urmare, toate genele unui genom manifestă fenomenul de *linkage aparent,* adică se transmit împreună la descendenți. Bineînțeles că în unele cazuri are loc *crossing-over* între cele două complexe de cromozomi și aceasta duce la recombinarea genelor și la apariția de „mutații".

Cercetări efectuate la alte specii de *Oenothera* au pus în evidență existența unor complexe de gene similare celui de la *O. lamarckiana.* Astfel, la *O. muricata* cele două sisteme sînt *rigens-curvans,* la *O. biennis* sînt *albicans-rubens* etc. Toate aceste specii sînt permanent hibride și manifestă heterozis în fiecare generație. Acest deosebit de interesant și original mecansim genetic permite speciilor respective să învingă dezavantajele biologice ale autopolenizării și să manifeste heterozis permanent.

## Heterozisul la organismele ce se reproduc asexuat, partenogenetic sau apogamic

Pe lîngă grupul mare al specilior care se înmulțesc sexuat, există destul de multe organisme care se reproduc asexuat, partenogenetic sau apogamic și care manifestă heterozis în fiecare generație. În timp ce la speciile ce se reproduc sexuat există diferite mecanisme genetice care favorizează heterozigoția și respectiv heterozisul, la speciile ce se reproduc asexuat, noua generație are exact același genom și complex de gene ca al organismelor din care provine și ca urmare conservă și fenomenul heterozis.

Scanned with OKEN Scanner

În cazul apogamiei și partenogenezei, organismele deși posedă organe sexuale, sînt lipsite de procesul fecundării, care constituie tocmai esența sexualității. Ca rezultat, descendența se formează din diferite celule diploide sau haploide apărute fără fecundare. În cazul reproducerii asexuate, organismele nu au nevoie de celule sexuale specializate și descendenții se dezvoltă din diferite organe vegetative (bulbi, tuberculi, muguri, ramuri etc.). De obicei aceste organisme au un grad înalt de heterozigoție care se conservă prin reproducere asexuată naturală sau artificială. De pildă, la lămîi, portocal, mandarin etc., semințele sînt produse apogamic, deși plantele au flori și polenizarea favorizează dezvoltarea semințelor și fructelor. La speciile de citrusi există un grad înalt de heterozigoție si aceasta se conservă la descendenți. Pe această cale artificială heterozigoția se păstrează la pomii fructiferi prin reproducere vegetativă (altoire). Numeroase soiuri de meri, peri, pruni etc. sînt hibrizi la origine și la ele păstrarea caracterelor de soi și a heterozisului se realizează exclusiv prin reproducere asexuată.

Este interesant de subliniat că în natură există foarte puține specii care se înmulțesc exclusiv asexuat. De obicei se constată o alternanță a generațiilor sexuate cu cele nesexuate, fapt care dă posibilitatea speciilor respective să combine avantajele heterozigoției pentru mărirea vitalității cu cele ale reproducerii asexuate prin care se conservă această stare heterozigotă.

## Autosterilitatea genetică și heterozisul

La diferite specii de plante, ca tutunul, trifoiul, vișinul etc. există un sistem genetic de autosterilitate care asigură fecundarea încrucișată și respectiv apariția fenomenului heterozis. S-a constatat că la aceste plante prin autopolenizare nu se obțin deloc semințe. Studiul mecanismului genetic al acestei *autoincompatibilități ereditare* a arătat că fecundarea încrucișată este determinată de prezența unei serii de gene alele: $S_1$, $S_2$, $S_3$ . . . $S_n$. În cazul autofecundării, planta respectivă are atît în ovule cît și în polen aceeași pereche de alele, de pildă $S_1$ $S_2$ sau $S_2$ $S_3$ etc. Din cauză că tuburile polinice nu pot crește pe un stil cu același geno-

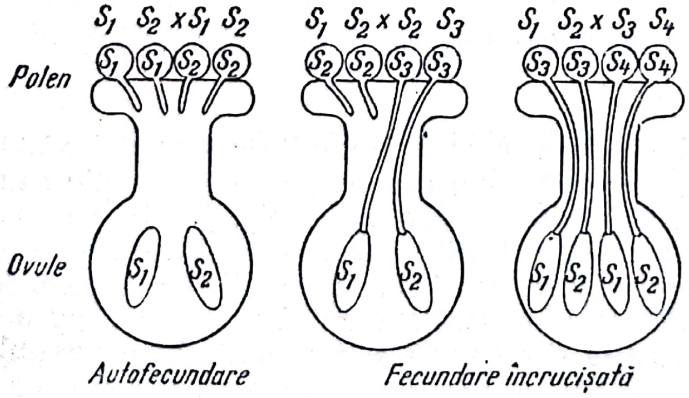



Fig. 96. Autoincompatibilitatea genetică la plante.

tip, fecundarea nu are loc. Dimpotrivă în cazul fecundării încrucișate între plante diferite genotipic, polenul poate germina, tuburile polinice cresc și fecundarea are loc. De exemplu prin polenizarea plantei cu alelele $S_1$ $S_2$ cu polen de la planta cu alelele $S_2$ $S_3$, o parte din polen conținînd alela $S_3$ (care nu este prezentă la ambii părinți) germinează normal și produce fecundarea. Dacă planta-mamă conține alelele $S_1$ $S_2$, iar planta-tată alelele $S_3$ $S_4$, atunci tot polenul germinează și determină fecundarea. Este evident că fiecare plantă poate conține numai 2 alele, nu mai mult, care sînt localizate opus într-o pereche de cromozomi. Acest mecanism de auto-incompatibilitate ereditară asigură polenizarea încrucișată la speciile respective și determină păstrarea heterozisului în fiecare generație.

## Heterozisul la triploizi

Plantele triploide obținute prin încrucișarea formelor diploide (2 *n*) și tetraploide (4 *n*) manifestă întotdeauna heterozis. La măr *(Malus domestica)* sînt cultivate atît varietăți diploide cît și triploide (2 *n* = 34, 51), la păr *(Pyrus communis)* există, de asemenea, soiuri diploide și triploide (2 *n* = 34, 51), la zmeur *(Rubus idaeus)* există varietăți diploide, triploide și tetraploide (2 *n* = 14, 21, 28), la bananier *(Musa sapientum)* există soiuri diploide și triploide (2 *n* = 22, 33) etc. Formele triploide sînt de obicei complet sau aproape complet sterile, astfel că reproducerea lor se realizează pe cale vegetativă prin altoire.

În practica culturii plantelor există însă forme triploide care nu sînt reproduse vegetativ, ci prin încrucișarea în fiecare an a formelor 2 *n* și 4 *n*. Astfel, la sfecla de zahăr se fac încrucișări libere între plante 2 *n* și 4 *n*, obținîndu-se un procent ridicat de triploizi (2 *n* = 27) care manifestă heterozis. În mod similar la pepenele verde *(Citrullus vulgaris)* s-au obținut experimental în Japonia, S.U.A. și România forme triploide care manifestă heterozis, au un procent ridicat de zahăr în fructe și sînt lipsite de semințe. Aceste forme se reproduc prin încrucișarea tetraploizilor ca genitor matern cu diploizii ca genitor patern.

Datorită faptului că triploizii manifestă heterozis, în cultura plantelor există în prezent numeroase varietăți 3 *n* care sînt înmulțite pe cale vegetativă sau prin încrucișarea 2 *n* × 4 *n*. Printre acestea pot fi citate varietățile de : *Petunia, Fragaria, Populus, Tulipa, Datura, Lilium, Crepis, Phleum, Hyacinthus, Solanum* etc.

## Amfiploidia, un tip constant de heterozis

Amfidiploizii pot fi considerați specii noi obținute pe cale naturală sau artificială prin hibridare urmată de o dedublare a numărului de cromozomi. Printre speciile amfidiploide naturale pot fi citate bumbacul *(Gosypium hirsutum = G. arboreum × G. thurberi)*, tutunul *(Nicotiana*

*tabacum = N. sylvestris × N. tomentosa)*, prunul *(Prunus domestica = = P. divaricata × P. spinosa)* etc.

Pe cale artificială au fost sintetizate specii experimentale noi, ca, de pildă, *Raphanobrassica (Brassica oleracea × Raphanus sativus), Triticale (Triticum aestivum × Secale cereale)* etc.

Amfiploizii sînt de fapt specii noi, cu origine difiletică sau polifiletică, care au posibilitatea să se reproducă sexuat datorită faptului că sterilitatea apărută în urma hibridării interspecifice este eliminată prin dublarea numărului de cromozomi. Desigur că atît hibridul steril cît și amfiploidul fertil manifestă heterozis, care în cazul amfiploidiei se păstrează de-a lungul generațiilor.

## EREDITATEA CARACTERELOR CANTITATIVE

O problemă genetică importantă, mai ales pentru practică, este moștenirea caracterelor cantitative, cum sînt : producția de masă vegetativă, semințe, fructe, ouă, lînă, lapte etc. După cum se știe, aceste caractere sînt influențate, pe de o parte, de condițiile de creștere a plantelor și animalelor, iar, pe de altă parte, de potențialul lor ereditar. Genetica cantitativă care are ca obiect de studiu moștenirea caracterelor cantitative își propune să determine in mod științific în ce măsură un caracter cantitativ este influențat de mediu și în ce măsură de genotip, precum și probabilitatea cu care anumite caractere fenotipice cantitative reapar la descendenți.

Pornindu-se de la aceste idei și folosindu-se metode de statistică matematică, s-au elaborat două formule matematice pentru studiul coeficientului de moștenire ($h^2$) și a coeficientului de repetare (C R) al caracterelor cantitative.

*Coeficientul de moștenire* ($h^2$) al caracterelor cantitative poate fi definit ca raportul dintre media caracterului respectiv la genitori și la descendenți. Pe baza fenomenului observat de multă vreme că variabilitatea fenotipică dintr-o populație este egală cu suma variațiilor ereditare și a celor provocate de mediu, se poate calcula ușor coeficientul de moștenire. Astfel :

$$\sigma_P^2 = \sigma_H^2 + \sigma_E^2, \text{ în care:}$$

— simbolul $\sigma^2$ (sigma mic la pătrat) reprezintă dispersia, fluctuația sau variația indivizilor ;
— P reprezintă populația
— H reprezintă ereditatea (de la cuvîntul englez heredity)
— E reprezintă mediul (de la cuvîntul englez environment).

Coeficientul de moștenire se calculează astfel :

$$h^2 = \frac{\sigma_H^2}{\sigma_P^2}.$$

Valoarea coeficientului de moștenire variază între $h^2=0$, atunci cînd caracterul respectiv depinde numai de mediu și nu se transmite ereditar, și $h^2=1$, cînd caracterul se transmite exact la descendenți, nefiind influențat de mediu. Acest din urmă caz nu se întîlnește la caracterele cantitative, ele fiind întotdeauna într-o anumită măsură influențate de mediu.

Coeficientul de moștenire ($h^2$) mai poate fi definit cu ajutorul coeficientului de corelație (r) între media caracterului cantitativ fenotipic la genitori și la descendenți. De pildă, studiindu-se comparativ producția de ouă la găini mai multe generații (la genitori și la descendenți), s-a constatat că $h^2=0{,}30$. Aceasta înseamnă că producția de ouă este determinată 30% de genotip și 70% de factorii de mediu. Ca urmare, selecția găinilor numai după producția de ouă nu dă indicații sigure că acest caracter se va transmite la descendenți. În general se consideră că numai atunci cînd $h^2 > 0{,}5$ descendenții vor moșteni cu mare probabilitate caracterele cantitative ale genitorilor.

*Coeficientul de repetare* (C R) prezintă, de asemenea, o mare importanță, deoarece cu ajutorul lui putem calcula măsura în care caracterele fenotipice cantitative se păstrează în cursul vieții plantelor sau animalelor, precum și în cursul generațiilor succesive. Coeficientul de repetare nu este altceva decît coeficientul de corelație (r) între media caracterelor fenotipice cantitative din cursul mai multor perioade de vegetație la plante, mai multor perioade de producție la animale sau dintre mai multe generații succesive. Desigur că păstrarea condițiilor de mediu în care trăiesc plantele și animalele are ca efect mărirea coeficientului de repetare, în timp ce modificarea mediului reduce acest coeficient.

În cazul plantelor multianuale (pomi fructiferi, vița de vie etc.) sau al animalelor cu mai multe perioade de producție (lapte, ouă, lînă etc.) se recomandă calcularea coeficientului de moștenire după mai multe cicluri de producție ($h_n^2$), deoarece în acest fel se mărește siguranța cu care se apreciază genotipul organismelor respective. *Coeficientul de moștenire mediu* al unei producții se calculează după formula :

$$h_n^2 = \frac{n \cdot h^2}{1 + [(n-1) \cdot r]}$$

în care r = coeficientul de corelație între producția diferiților ani (C R).
$h^2$ = coeficientul de moștenire, care se consideră că rămîne același de la un an la altul.

Iată un exemplu teoretic : dacă pentru producția de ouă coeficientul de moștenire este $h^2 = 0{,}30$ și coeficientul de corelație între producția a 3 ani succesivi este $r = 0{,}40$, se poate calcula valoarea lui

$$h_n^2 = \frac{3 \times 0{,}30}{1+[(3-1)\times 0{,}4]} = \frac{0{,}9}{1{,}8} = 0{,}5.$$

Ținînd seama deci de repetabilitatea fenomenului, putem spune cu o siguranță mai mare că producția de ouă este determinată genetic și ca urmare selecția după acest caracter poate da rezultate pozitive.

Valoarea coeficientului de moștenire ($h^2$) pentru cîteva caractere cantitative la găini variază în limite destul de mari, după cum reiese din datele de mai jos :

— producția de ouă . . . . . $h^2 = 0,30$
— Greutatea ouălor . . . . . $h^2 = 0,50 — 0,75$
— Fecunditatea . . . . . $h^2 = 0,02 — 0,15$
— Procentul de ecloziune . . . . . $h^2 = 0,03 — 0,15$
— Randamentul de carne . . . . . $h^2 = 0,5 — 0,6$

## FENOMENUL HETEROZIS ȘI IMPLICAȚIILE SALE PRACTICE

Descoperirea fenomenului heterozis și a unor metode speciale prin care se obțin cu ușurință hibrizi la care acest fenomen se manifestă puternic a avut o mare însemnătate pentru cultura plantelor și creșterea animalelor. Rezultate deosebite s-au obținut la *plantele alogame* și în special la porumb, putîndu-se spune pe drept cuvînt că descoperirea heterozisului a revoluționat cultura acestei plante. Porumbul hibrid constituie un exemplu elocvent de aplicare în practică a realizărilor geneticii. Metoda producerii de sămînță hibridă la porumb prin încrucișarea a două linii consangvinizate a fost preconizată încă de la începutul secolului al XX-lea de către cercetătorul american G. H. Shull, însă ea nu și-a găsit aplicare în practică decît după 1917, cînd D. F. Jones elaborează metoda producerii de hibrizi dubli prin încrucișarea a doi hibrizi simpli între linii consangvinizate.

În S.U.A., procesul de creare a hibrizilor sexuați între linii consangvinizate de porumb a început pe scară mai mare în anul 1930. Pînă în 1933, suprafețele ocupate de hibrizi între linii consangvinizate nu a depășit 0,1% din suprafața totală cultivată cu porumb. După aceea, hibrizii între linii consangvinizate s-au extins vertiginos în cultură, reprezentînd în 1938 14,9% din suprafața cultivată cu porumb, în 1943 52,4%, în 1948 75,5%, iar în 1953 86,0%. În prezent, pe întreaga suprafață cu porumb se cultivă în exclusivitate hibrizi dubli între linii consangvinizate. Paralel cu creșterea suprafețelor ocupate de porumbul hibrid între linii consangvinizate au crescut și producțiile medii la hectar. Astfel, dacă în perioada 1933—1935 producția medie se cifra la 12,8 q/ha, în perioada 1946—1948 ea ajunsese la 23,2 q/ha, iar în 1952 la 25,8 q/ha.

În țara noastră primele cercetări pentru crearea de linii consangvinizate și hibrizi la porumb au fost efectuate de V. Mosneaga și colaboratorii, însă numai în ultimul deceniu aceste cercetări s-au dezvoltat considerabil. O realizare remarcabilă o constituie crearea mai multor hibrizi dubli de porumb pentru diverse condiții pedoclimatice din țara noastră, de către Institutul de cercetări pentru cereale și plante tehnice de la Fundulea. S-a ajuns astfel ca în anul 1964 pe întreaga suprafață de aproximativ 4 milioane hectare să se cultive exclusiv porumb hibrid.

Scanned with OKEN Scanner

Ritmul extinderii în practică a acestei realizări remarcabile a geneticii a depășit în țara noastră nivelul unor țări cu veche tradiție științifică.

Procesul de creare a hibrizilor între linii consangvinizate are trei etape importante :

*a) Crearea de linii consangvinizate.* Pentru crearea de linii consangvinizate se folosește metoda polenizării cu polen propriu a celor mai bune plante din soiurile cele mai productive. Operația consangvinizării se repetă timp de mai mulți ani. De obicei se consideră că, după 5—6 generații, liniile consangvinizate capătă o mare uniformitate, în special în ceea ce privește diferitele caractere morfologice, adică devin homozigote. După 5—6 generații de consangvinizare forțată sub izolator se continuă autofecundarea prin polenizarea liberă în interiorul fiecărei linii, pe parcele izolate în spațiu de alte culturi de porumb.

*b) Alegerea celor mai bune linii consangvinizate.* În timpul primilor ani de consangvinizare se face și alegerea celor mai bune linii, ținîndu-se seama de un complex de caractere și însușiri pozitive, liniile nevaloroase eliminîndu-se de la început.

Pentru alegerea mai departe a liniilor consangvinizate, acestea se încrucișează cu un soi analizator și se urmărește productivitatea hibrizilor obținuți. S-a constatat că liniile care au dat cele mai bune rezultate la încrucișarea cu un soi analizator s-au dovedit cele mai bune și la încrucișarea între ele.

*c) Încrucișarea între linii consangvinizate.* Pentru producerea de sămînță hibridă între liniile consangvinizate alese prin metoda de mai sus se folosesc mai multe metode. Astfel, prin încrucișarea a două linii consangvinizate se obțin *hibrizi simpli* ($A \, ♀ \times B \, ♂$). Prin încrucișarea unui hibrid simplu (între două linii consangvinizate) cu o altă linie consangvinizată se obține *un hibrid între trei linii consangvinizate.* În acest caz, ca mamă se folosește hibridul simplu, iar ca tată linia consangvinizată $(A \times B) \, ♀ \times C \, ♂$. În sfîrșit, prin încrucișarea a doi hibrizi simpli se obțin *hibrizi dubli,* la care participă deci patru linii consangvinizate $(A \times B) ♀ \times (C \times D) ♂$. În cultură se folosesc numai hibrizii din prima generație la care fenomenul heterozis este puternic și plantele au productivitatea cea mai ridicată. Cercetările lui P. N. Neal (1935) au arătat că în generația a doua ($F_2$) hibrizii simpli între două linii consangvinizate dau o scădere de producție de 29,5% față de prima generație, hibrizii dintre trei linii consangvinizate, o scădere de 23,3%, iar hibrizii dubli, o scădere de 15,8% față de $F_1$. În generațiile următoare, scăderile de producție sînt și mai mari față de prima generație. Uneori se încrucișează liber un număr mai mare de linii consangvinizate (6—16), obținîndu-se așa-numiții *hibrizi sintetici.*

Schema creării de hibrizi dubli pornind de la linii consangvinizate, după H. Rundfeldt (1952) este următoarea : în primul an ($C_0$)* se

* Plantele consangvinizate se notează cu $C_0$, iar diferitele generații care se obțin de la aceste plante și care la rîndul lor se consangvinizează se notează cu $C_1, C_2, C_3 \ldots C_n$.

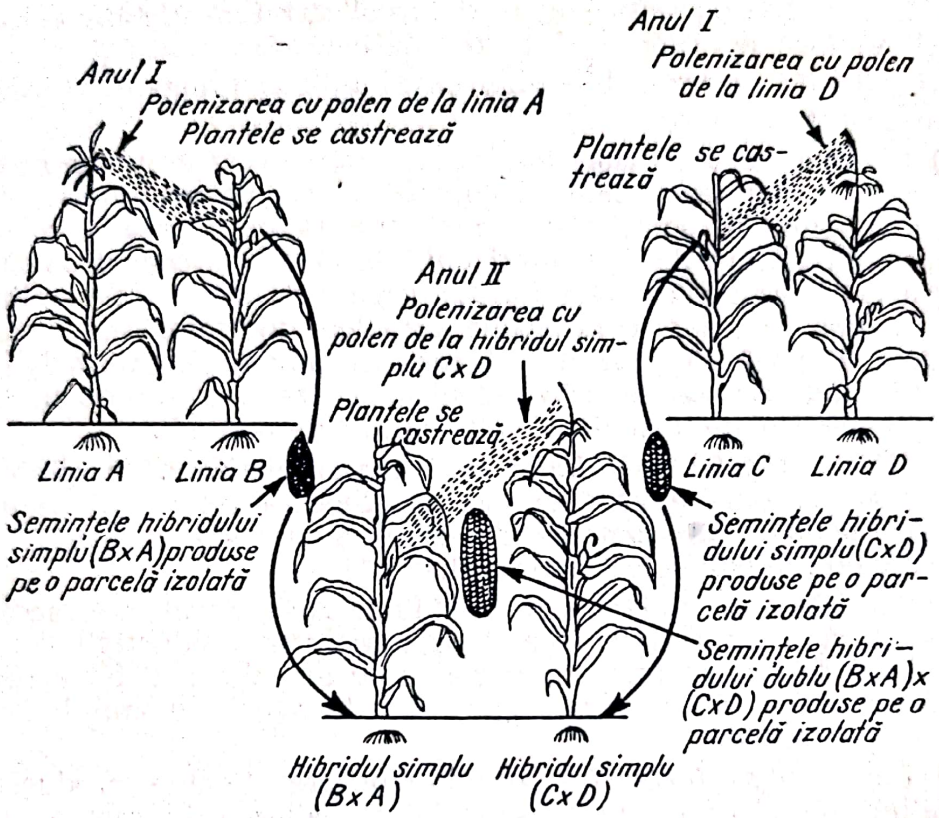



Fig. 97. Schema producerii hibrizilor dubli între linii consangvinizate de porumb.

consangvinizează cele mai valoroase plante ale unui soi sau hibrid dublu. În anul 2 și 3 ($C_1$ și $C_2$) se continuă consangvinizarea celor mai bune plante și se elimină liniile nevaloroase. În anul 4 și 5 ($C_3$ și $C_4$) se continuă consangvinizarea celor mai bune plante și se încrucișează toate liniile consangvinizate cu soiul analizator, pentru a se determina cele mai valoroase linii. În anul 6 ($C_5$) se continuă consangvinizarea celor mai bune plante și se determină cele mai bune linii consangvinizate, în urma încrucișării liniilor cu soiul analizator timp de doi ani. În anul 7 ($C_6$) se continuă consangvinizarea și se încrucișează cele mai bune linii consangvinizate pentru obținerea de hibrizi simpli. În anul 8 ($C_7$) se continuă consangvinizarea liniilor valoroase, se verifică hibrizii simpli ($F_1$) obținuți în anul precedent, pentru a-i afla pe cei mai productivi, și se încrucișează cei mai buni hibrizi simpli între ei, pentru obținerea de hibrizi dubli. În anul 9 ($C_8$) se continuă consangvinizarea liniilor valoroase și se verifică hibrizii dubli ($F_1$) în ceea ce privește productivitatea. În anul 10 se înmulțesc liniile consangvinizate valoroase și se studiază în culturi comparative cei mai buni hibrizi dubli ($F_1$). În anul 11 se înmulțesc pe parcele izolate spațial liniile consangvinizate pentru producerea hibrizilor dubli. În anul 12 se încrucișează pe o parcelă

izolată spațial liniile consangvinizate două cîte două, pentru obținerea hibrizilor simpli. Pentru aceasta se seamănă alternativ un rînd din linia-tată și două rînduri din linia-mamă sau 2 rînduri-tată și 4 sau 6 rînduri-mamă. Plantele liniei consangvinizate-mamă se castrează, pentru a se poleniza exclusiv cu polen de la linia consangvinizată-tată. În anul 13 se încrucișează hibrizii simpli ($F_1$), pentru obținerea de hibrizi dubli ($F_1$). Pentru aceasta, cei doi hibrizi simpli se seamănă pe o parcelă izolată spațial, alternativ cîte patru rînduri din hibridul simplu-mamă și un rînd din hibridul-tată, iar plantele-mamă se castrează. Sămînța hibridă obținută se dă în producție în gospodăriile agricole, unde ea nu se cultivă decît un singur an ($F_1$).

Cu toate că procesul de creare a liniilor consangvinizate și a hibrizilor simpli și dubli este relativ greoi și cere un timp destul de îndelungat, totuși, datorită sporului important de producție pe care-l dau hibrizii dubli de porumb între linii consangvinizate, ei s-au răspîndit pe scară mare în cultură. În prezent se extind în cultură hibrizii dubli obținuți pe bază de androsterilitate nucleo-citoplasmatică și hibrizii simpli.

Cercetările din ultima vreme au arătat însă că rezultate deosebite privind heterozisul se obțin și la alte plante alogame, cum sînt: sfecla de zahăr, secara, hrișca, floarea soarelui, cînepa, trifoiul, lucerna etc.

La unele *plante autogame,* hibrizii dintre soiuri manifestă heterozis, avînd o vitalitate apreciabil mai mare ca a genitorilor. H. L. Carnahan (1947) a încrucișat o grupă de patru soiuri de in cu o altă grupă de patru soiuri (folosite ca soiuri analizatoare), deosebite în ceea ce privește originea, obținînd în total 16 hibrizi sexuați, care au fost studiați în $F_1$ și $F_2$. Cercetările sale au arătat că toți hibrizii din prima generație au depășit, în ceea ce privește producția de semințe, genitorul cel mai productiv. În medie, depășirea de producție a hibrizilor în comparație cu producția genitorilor a fost de 40% pentru $F_1$ și 26% pentru $F_2$.

La tomate, altă plantă autogamă, fenomenul heterozis la hibrizii sexuați între soiuri este puternic, fapt pentru care s-a extins considerabil cultivarea plantelor hibride în $F_1$. Extinderea în cultură a hibrizilor se datorește, de asemenea, faptului că producerea de semințe hibride este relativ ușoară și se poate realiza pe scară largă.

L. R. Powers (1945) a executat încrucișări între 10 soiuri de tomate din specia *Lycopersicum esculentum* și *L. esculentum* × *L. pimpinellifolium.* Fiecare soi a fost încrucișat cu toate celelalte 9 soiuri, obținîndu-se cîte 9 hibrizi, a căror productivitate a fost studiată comparativ cu a soiurilor. Rezultatele obținute de L. R. Powers sînt foarte concludente și ele arată că, în general, hibrizii dau sporuri importante de producție, care variază între 19,4% și 225,6%. Din aceste experiențe reiese, de asemenea, însemnătatea deosebită pe care o are alegerea cît mai judicioasă a genitorilor.

Cercetările lui A. V. Alpatiev (1958) asupra unor hibrizi de tomate au arătat că, printr-o alegere potrivită a perechilor de genitori, fenomenul heterozis se intensifică, astfel că plantele hibride dau un spor de producție de 30—40%, iar în unele cazuri de 70—80% față de geni-

Scanned with OKEN Scanner

torul cel mai productiv. Cele mai bune rezultate le dă hibridarea sexuată între soiuri foarte deosebite după un complex de caractere și însușiri. De pildă se recomandă încrucișarea între soiuri precoce și tardive, între soiuri înalte și pitice etc.

În R. P. Bulgaria, H. P. Daskalov (1956) a studiat fenomenul heterozis la tomate și alte legume. Cercetările sale au dus la stabilirea celor mai bune combinații de soiuri și au arătat totodată că fenomenul heterozis este mai puternic în prima parte a vegetației plantelor hibride, care au în această perioadă fructe mai multe și mai mari, și scade spre sfîrșitul perioadei de vegetație, cînd diferența de producție între plantele hibride și cele nehibride se micșorează substanțial. La tomate, rezultate bune au dat hibrizii Zarea × Kometa, nr. 10 × Bizon, la pătlăgelele vinete nr. 12 × Delicates, la ardei Kalinkov × Silvia și Djulinski șipka × Kozi roga. Datorită importanței economice deosebite a culturii hibrizilor sexuați între soiuri, în R. P. Bulgaria, încă din anul 1954, circa 90% din suprafața ocupată de tomate era cultivată cu sămînță heterozis.

La noi în țară, cercetări privind fenomenul heterozis la tomate și alte legume se efectuează mai ales la Institutul de cercetări horticole. Rezultate bune la tomate au dat hibrizii nr. 71 × Premiere, nr. 71 × Aurora, nr. 10 × Bizon, Erliest of all × Premiere, Pitică de Odessa × Prichard, Olandeze × Augusta etc., și la pătlăgelele vinete hibridul între soiurile Bucureștene × Pekin.

Pe baza fenomenului heterozis s-au obținut rezultate bune la plantele forestiere. Prin încrucișarea laricelui european (*Larix decidua* Mill.) cu laricele japonez (*L. leptolepis* Murr.) s-a creat hibridul *Larix eurolepis* Henry., iar din încrucișarea inversă a acestor două specii s-a obținut hibridul *Larix lepteuropa* Dengler. La acești hibrizi fenomenul heterozis este bine exprimat, în special la *L. eurolepis* Henry., care la vîrsta de 30 de ani ajunge la circa 23,5 m înălțime și circa 35 cm diametru.

La stejar există în cultură hibrizi naturali și artificiali, valoroși prin creșterea lor rapidă și calitatea bună a lemnului. În țara noastră, printre hibrizii naturali de stejar care prezintă importanță practică pot fi citați :

— stejarul pedunculat (*Q Robur*) × *gorunul* (*Q. petraea*) = *Q. rosacea* ;

— gîrnița (*Q. Frainetto*) × gorunul (*Q. petraea*) = *Q. Haynaldiana* ;

— stejarul brumăriu (*Q. pedunculiflora*) × stejarul pedunculat (*Q. Robur*) = *Q. romanica* ;

— gorunul (*Q. petraea*) × *Q. dentata* = *Q. Vilmoriana*.

O altă specie forestieră la care sînt cunoscuți numeroși hibrizi naturali și artificiali este plopul. Astfel, plopii de Canada (*Populus canadensis*), cunoscuți de multă vreme în cultură, sînt hibrizi între plopul negru european (*P. nigra*) și plopii americani *P. deltoides* și *P. angulata*.

*La animale fenomenul heterozis se manifestă printr-o prolificitate mai mare, un ritm mai rapid de creștere, o capacitate mai bună de a valorifica nutreturile, rezistență superioară față de boli și adaptabilitate mai mare la condițiile de mediu.* Din această cauză animalele provenite din încrucișarea intra- sau interspecifică au în general o productivitate superioară genitorilor și de aceea sînt folosite pe scară largă în practică. În ultima vreme au fost elaborate unele metode, cum sînt : încrucișarea industrială, încrucișarea alternativă, încrucișarea între linii consangvinizate etc. pentru obținerea de animale ce manifestă heterozis sau pentru păstrarea heterozisului mai multe generații.

*Încrucișarea industrială* este o metodă ce constă în împerecherea unor masculi și femele ce aparțin la rase diferite, produșii obținuți urmînd a nu fi folosiți la reproducție, ci numai pentru producție în $F_1$. Metoda aceasta de încrucișare se bazează pe faptul că metișii în prima generație au o creștere mai intensă decît animalele de rasă curată, sînt mai viguroși și mai rezistenți și, ceea ce este foarte important, utilizează mai bine nutreturile, astfel că dau producții mai mari într-un timp mai scurt. Este deci vorba de fenomenul heterozis, care se observă și la plante, ce apare în prima generație provenită din încrucișarea unor organisme neînrudite.

*Încrucișarea alternativă* este metoda prin care metișii (femelele) între două rase se încrucișează în prima generație cu una dintre rasele genitoare, în generația a doua cu cealaltă rasă genitoare și așa mai departe. Metișii masculi sînt mereu îndepărtați, pentru fecundarea femelelor metise folosindu-se alternativ masculii celor două rase genitoare. Schematic, acest tip de încrucișare poate fi redat astfel :

Rasa $A$ (♀) × rasa $B$ (♂) = metiși $F_1$
metișii $F_1$ (♀) × rasa $A$ (♂) = metiși $F_2$
metișii $F_2$ (♀) × rasa $B$ (♂) = metiși $F_3$
metișii $F_3$ (♀) × rasa $A$ (♂) = metiși $F_4$ etc...

În mod similar se poate efectua încrucișarea alternativă între trei rase. Metoda încrucișării alternative dă bune rezultate mai ales dacă se iau măsuri pentru alegerea în fiecare generație a celor mai bune femele metise, la care fenomenul heterozis este mai puternic, precum și măsuri de hrănire și întreținere corespunzătoare.

*Încrucișarea între linii consangvinizate* este metoda prin care se împerechează între ele linii de animale provenite prin înmulțire consangvină.

Consangvinizarea la animale nu este altceva decît împerecherea între indivizi mai mult sau mai puțin înrudiți, ca, de pildă, frate × soră, tată × fiică, mamă × fiu etc. Împerecherea între animale înrudite este o metodă cunoscută și folosită de multă vreme în selecția animalelor, însă în ultima vreme ea se folosește pentru crearea de linii consangvinizate prin a căror încrucișare se obțin metiși ce manifestă heterozis.

Scanned with OKEN Scanner

★

Un exemplu interesant de heterozis cu valoare practică la animale este cel dat de hibridarea între vaca de lapte europeană *(Bos taurus)* și zebu *(Bos indicus)*. Dintre acești hibrizi care manifestă heterozis, avînd în special rezistența zebului la temperaturi ridicate, la boli etc., au fost selecționate rase valoroase de vaci de lapte, cum sînt Santa Gertrudis în Texas și Hope Holsteins în Jamaica. În Statele Unite se consideră că prin folosirea fenomenului heterozis s-a realizat o mărire a producției de lapte cu 20%. La găini se folosește, de asemenea, încrucișarea între rase, metișii avînd o creștere mai rapidă și valorificînd mai bine nutrețurile. La porci se aplică cu succes metoda încrucișării industriale și alte metode de încrucișare pentru obținerea animalelor cu heterozis. La viermele de mătase *(Bombyx mori)*, primele încrucișări între rase de origine chineză și rase japoneze s-au efectuat încă în 1911 la stațiunea experimentală de sericicultură din Jokohama (Japonia). Începînd din 1914, hibrizii au început să fie extinși în cultură, astfel că în 1919 peste 90% din întreaga producție de mătase era dată de indivizi ce manifestau heterozis. Trebuie subliniat că prin încrucișare s-a mărit greutatea gogoșilor de la aproximativ 20 centigrame la peste 40 centigrame, obținîndu-se totodată diferite tipuri de hibrizi cu mătase cu filamentul foarte uniform și rezistent, rezistenți la condiții nefavorabile etc.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL IX

# HIBRIDAREA INTERSPECIFICĂ

## PRIMELE CERCETĂRI DE HIBRIDARE INTERSPECIFICĂ

Catîrul *(E. mullus)*, hibrid între cal *(Equus caballus)* şi asin *(E. asinus)*, este unul dintre primii hibrizi interspecifici obţinuţi încă în antichitate. Cercetări mai ample asupra sexelor şi hibridării sexuate interspecifice au fost începute în secolele XVII şi XVIII. Printre cei care au efectuat astfel de cercetări pot fi citaţi : T. Fairchild, Ph. Miller, I. Gleditch, I. Koelreuter, T. Knight, K. Linné etc. S-au obţinut astfel un număr important de hibrizi interspecifici şi s-au făcut primele observaţii asupra posibilităţii încrucişării între specii diferite şi asupra comportării hibrizilor. Secolul al XIX-lea a însemnat o extindere considerabilă a cercetărilor de hibridare interspecifică, cercetări legate de necesitatea creării de noi soiuri de plante şi rase de animale. O seamă de experimentatori celebri, ca : A. F. Wiegmann, K. F. Gärtner, G. A. Godron, Ch. Naudin, K. A. Timiriazev, I. V. Miciurin, H. Vilmorin etc., au efectuat numeroase cercetări şi au adus contribuţii de mare importanţă la cunoaşterea acestui fenomen. În mod deosebit, atenţia cercetătorilor s-a îndreptat spre studierea obstacolelor naturale importante care, pe de o parte, fac ca uneori hibridarea interspecifică să fie foarte dificilă, iar, pe de altă parte, determină la hibrizii obţinuţi o sterilitate totală, parţială sau limitată la un sex.

Problema hibridării între specii aparţinînd la genuri sau chiar la familii diferite a fost studiată cu multă atenţie de către Ch. Darwin, atît pe baza materialului experimental existent pe vremea aceea cît şi pe baza unor cercetări proprii. În primul rînd, Ch. Darwin a remarcat că părerea multor naturalişti conform căreia o deosebire esenţială între varietăţi şi specii constă în posibilitatea sau imposibilitatea în-

crucișării și a obținerii de hibrizi fertili nu corespunde realității. Analizînd rezultatele experiențelor lui Kölreuter, Gärtner și ale multor horticultori practicieni, Ch. Darwin arată că de fapt „...sterilitatea diferitelor specii cînd sînt încrucișate este atît de diferită ca gradație și treptele sînt atît de insensibile, iar pe de altă parte, fertilitatea speciei pure este atît de ușor influențată de diferite condiții, încît pentru toate scopurile practice este extrem de greu să spunem unde sfîrșește fertilitatea perfectă și unde începe sterilitatea... În felul acesta se poate arăta că nici sterilitatea, nici fertilitatea nu oferă vreo deosebire sigură între specii și varietăți. Dovezile rezultînd din această sursă au un caracter de trecere și sînt la fel de îndoielnice ca și dovezile rezultate din alte deosebiri constituționale și structurale" *.

În capitolul IX, intitulat *Hibridizarea,* din *Originea speciilor,* Ch. Darwin analizează pe larg cele două aspecte importante ale hibridării între specii diferite, și anume problema imposibilității încrucișării și problema sterilității hibrizilor. El citează numeroase exemple care demonstrează că nu se poate vorbi în general despre imposibilitatea încrucișării între specii diferite însă relativ înrudite, deoarece există o gradație infinită de forme de trecere de la fertilitatea deplină pînă la sterilitatea totală. Printre cauzele care provoacă în unele cazuri imposibilitatea încrucișării între specii diferite de plante, Ch. Darwin citează: pistilul prea lung pentru ca tuburile polinice să poată ajunge la ovar, lipsa de germinație a polenului pe stigmatul străin, incapacitatea tuburilor polinice de a pătrunde prin suprafața stigmatului sau incapacitatea elementului mascul ajuns la elementul femel de a-l fecunda, pieirea embrionului în primele stadii de dezvoltare etc.

O mare gradație se observă, de asemenea, în ceea ce privește sterilitatea hibrizilor. În unele cazuri, hibrizii sînt complet sterili, iar în altele au o fertilitate superioară părinților. Cauza sterilității hibrizilor, care se observă în unele cazuri la încrucișarea între specii diferite, rezidă, după părerea lui Ch. Darwin, în tulburarea sistemului lor reproducător, datorită unirii în procesul fecundației a două organisme prea diferite. Așa cum prin mutarea plantelor și animalelor din condițiile lor naturale se produc tulburări în sistemul lor reproducător care le provoacă sterilitatea, tot așa și în cazul hibridării între specii diferite se produc tulburări, însă nu provocate de schimbarea condițiilor de viață, ci datorită încrucișării.

În sfîrșit, Ch. Darwin arată că posibilitatea obținerii de hibrizi între specii diferite depinde într-o mare măsură de specia care este folosită ca mamă. El citează experiențele de hibridare reciprocă ale lui Kölreuter între speciile *Mirabilis jalapa* și *M. longiflora,* la care încrucișarea directă reușea, iar hibrizii erau suficient de fertili, în timp ce încrucișarea inversă nu dădea rezultate.

Cu toate că primele încercări de hibridare interspecifică au fost făcute încă în antichitate, numai în a doua jumătate a secolului trecut

* Ch. Darwin *Originea speciilor,* București, Ed. Academiei R.P.R., 1957. p. 234—235.

hibridarea interspecifică începe să fie aplicată în practică pentru crearea de soiuri noi de plante de cultură. De pildă, cunoscutul selecționator american L. Burbank a folosit în activitatea sa metoda hibridării între specii diferite, uneori destul de îndepărtate din punct de vedere filogenetic.

Prin efectuarea unor încrucișări complexe între prunul japonez și cais a fost obținut plumcotul, care nu este nici cais nici prun, dar care îmbină calitățile celor două specii. Printre cele mai bune soiuri de plumcot selecționate de L. Burbank pot fi citate: Apex, Triumf și Corona.

Rezultate interesante a obținut L. Burbank prin hibridarea între piersicul cu frunze roșii și soiul de migdal Languedoque. Dintre numeroșii hibrizi obținuți au fost selecționate plante care aveau fructe cu caractere intermediare: pulpa de piersic și sîmburele de migdal. Prin încrucișarea unei plante hibride cu piersicul oriental roșu a fost obținut un soi care avea, de asemenea, fructe intermediare între piersic și migdal, dar care avea niște flori mari, frumoase, cu diametrul de 5 cm. Acest soi hibrid valoros putea fi folosit atît în livezi cît și ca plantă ornamentală în grădini și parcuri. Prin încrucișarea migdalului cu nectarina, o plantă înrudită cu piersicul, dar care are fructele nepubescente, a fost obținut un soi hibrid care avea fructe cu pielița netedă, pulpa de piersic, sîmburele de migdal și, ceea ce este foarte interesant, cu o creștere extrem de rapidă. La acest hibrid, fenomenul heterozis era foarte puternic, plantele crescînd de 5—10 ori mai repede decît genitorii.

Prin încrucișarea între castanul japonez și alte specii de castan, L. Burbanck a creat un soi de castan pitic care rodește după 18 luni de la însămînțare sau după 6 luni, prin altoirea pe pomi maturi. Castanul pitic făcea însă fructe uriașe, adunate cîte 6—9 într-o cupă și care cîntăreau pînă la 28 g fiecare. Tot prin hibridare îndepărtată *(Juglans nigra* × *J. regia)* a fost creat soiul de nuc Paradox, la care fenomenul heterozis era foarte puternic, avînd o creștere extraordinar de rapidă.

Hibridarea interspecifică a fost folosită de L. Burbank pentru crearea unei margarete cu flori mari, avînd 10—17,5 cm diametru și albe ca zăpada. În acest scop au fost încrucișate margareta comună americană *(Chrysanthemum leucanthemum)* cu margareta engleză *(C. maximum),* iar hibrizii obținuți au fost încrucișați cu o altă specie de margarete, originară din Japonia *(C. nipponicum).* Din acești hibrizi a fost selecționat soiul Sasta, cu flori albe și foarte mari.

L. Burbank a încrucișat între ele diferite specii de cactus, iar dintre hibrizi a fost selecționat cactusul gigantic fără spini. Acest cactus crește foarte repede, atingînd 3 m înălțime, este rezistent la secetă, frunzele sale sînt fără ghimpi, astfel că pot fi folosite ca nutreț pentru animale, fructele au o culoare roșie-zmeurie, sînt suculente, dulci și au parfum de ananas. Recolta de frunze și fructe poate atinge 600 t la hectar. În sfîrșit trebuie menționate și alte realizări ale lui L. Burbank obținute prin încrucișare interspecifică, cum sînt: hibridul dintre zmeur și mur, cu fructe care ating 7,5 cm lungime, hibridul dintre portocal și lămîi etc.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate interesante a obținut, de asemenea, cunoscutul selecționator rus I. V. Miciurin prin folosirea metodei de hibridare interspecifică. În scopul obținerii unor hibrizi interspecifici la pomii fructiferi, el a elaborat diferite metode de învingere a rezistenței la încrucișare și de eliminare a sterilității hibrizilor, cum sînt :

*Metoda apropierii vegetative prealabile,* care constă în altoirea prealabilă a genitorilor — unul pe celălalt — urmată de încrucișarea sexuată. Prin metoda apropierii vegetative prealabile, I. V. Miciurin a învins rezistența la încrucișare și a obținut hibrizi între specii diferite, ca, de pildă : *Prunus armeniaca* var. *Mongolica* × *Prunus cerasifera, Prunus fructicosa* × *Prunus pennsylvanica, Pirus communis* × *Pirus ussuriensis, Pirus baccata* × *Pirus malus, Pirus malus* × *Pirus communis, Pirus communis* × *Sorbus terminalis* etc.

*Metoda polenizării cu amestec de polen* este o altă metodă de învingere a rezistenței la încrucișare între forme îndepărtate sistematic, prin care florile genitorului matern sînt polenizate cu un amestec de polen de la mai multe soiuri sau varietăți ale genitorului patern sau chiar de la mai multe specii diferite.

*Metoda intermediarului* se folosește în cazul cînd se urmărește obținerea de hibrizi între două specii foarte îndepărtate filogenetic. În acest caz, unul dintre genitori se încrucișează cu o specie intermediară, înrudită cu ambii genitori. După aceea hibridul, ce reprezintă o verigă intermediară între cele două specii, se încrucișează cu celălalt genitor.

De asemenea, I. V. Miciurin a utilizat și alte metode în activitatea sa, cum sînt : folosirea ca genitor matern a unei plante hibride la prima fructificare, aducerea unei porțiuni de stigmat de la florile genitorului patern și depunerea sa împreună cu polenul pe stigmatul florilor materne, scurtarea stilului florii de la planta maternă etc. Pentru înlăturarea sterilității hibrizilor s-a folosit metoda schimbării condițiilor de nutriție a genitorilor, metoda folosirii semințelor nu de la prima fructificare, ci de la cele ulterioare etc.

Printre cei mai interesanți hibrizi obținuți de I. V. Miciurin prin folosirea acestor metode pot fi citați : soiurile de meri Bellefleur-Chitaica, Candil-Chitaica și Borsdorf-Chitaica (hibrizi între mărul cultivat și mărul chinezesc *Malus prunifolia),* soiurile de peri Beurré zimniaia Miciurina, Tolstobejka și Rakovka (hibrizi între părul cultivat și părul sălbatic de Ussuri *Pyrus ussuriensis),* soiurile de pruni Reine Claude Reforma, Reine Claude Auriu, Reine Claude porumbar (hibrizi între prun și porumbar *Prunus spinosa),* soiurile de vișini Frumusețea Nordului, Bastardul cireșului și Negru de larg consum (hibrizi între vișin și cireș etc.).

I. V. Miciurin a subliniat, de asemenea, faptul că și în natură hibridarea interspecifică are un rol important în procesul de formare a speciilor de plante, adică în evoluție, scriind : „...în decurs de milioane de ani, noile forme de plante s-au născut prin încrucișarea între diferite specii și genuri, sub influența factorilor puternici ai mediului extern,

și aceasta explică imensa diversitate a speciilor de plante existente în momentul de față" *.

În sfîrșit trebuie arătat că uneori hibridarea între două specii diferite este posibilă numai într-un anumit sens și nu este posibilă în sens invers. Faptul acesta a fost remarcat chiar de către I. Kölreuter, unul dintre primii oameni de știință care au făcut hibridări sexuate la plante. Acesta a constatat că hibridarea între *Mirabilis jalapa* ♀ × *M. longiflora* ♂ reușește, însă hibridarea inversă, *M. longiflora* ♀ × *M. jalapa* ♂ nu este posibilă.

În prezent sînt cunoscute numeroase exemple că hibridarea între specii reușește uneori numai folosind o anumită specie ca mamă. Iată cîteva exemple :

— *Brassica oleracea* ♀ × *B. napus* ♂ — nu dă rezultate ;
— *Brassica napus* × *B. oleracea* ♂ — se obțin hibrizi ;
— *Brassica oleracea* ♀ × *B. sativus* ♂ — nu dă rezultate.
— *Brassica sativus* ♀ × *B. oleracea* ♂ — se obțin hibrizi ;
— *Triticum aestivum* ♀ × *Aegilops ovata* ♂ — nu dă rezultate ;
— *Aegilops ovata* ♀ × *Triticum aestivum* ♂ — se obțin hibrizi.

De asemenea, s-a observat de multă vreme că hibrizii reciproci interspecifici se deosebesc considerabil între ei și că adesea organismul matern exercită o influență preponderentă asupra dezvoltării lor. De pildă, hibrizii reciproci dintre *E. caballus* și *E. asinnus* se deosebesc prin mărime, culoare, viteză de creștere, capacitate de muncă etc.

R. Goldschmidt (1924) a încrucișat speciile *Lymantria dispar* originară din Europa și *L. japonica* originară din Asia, specii care se deosebesc puternic prin intensitatea colorației. Hibrizii reciproci semănau întotdeauna mai mult cu specia care era folosită ca mamă. Dacă specia de culoare închisă era mamă și cea deschisă tată, hibrizii aveau o culoare intermediară, însă mai apropiată de mamă, iar în cazul cînd specia de culoare deschisă era mamă și cea închisă tată, hibrizii erau mai deschiși la culoare chiar decît specia mamă.

Prin hibridarea reciprocă a două specii ale genului Triton, K. Pariser (1936) a constatat că prima generație are după metamorfoză o lungime asemănătoare cu specia maternă. Iată lungimea medie a hibrizilor reciproci și a genitorilor după metamorfoză :

— *Triton palmatus* = 26 mm ;
— *Triton alpestris* = 37,2 mm :
— *T. palmatus* (♀) × *T. alpestris* (♂) = 25,3 mm ;
— *T. alpestris* (♀) × *T. palmatus* (♂) = 29,1 mm.

Această experiență arată că organismul matern exercită o influență preponderentă asupra vitezei de creștere a organismelor hibride.

* I. V. Miciurin, *Opere alese*, Ed. Acad. R.P.R., 1953, p. 225.

La hibrizii interspecifici, datorită diferențelor considerabile între genotipul genitorilor, se realizează un heterozigotism puternic, fapt care face ca în urma segregării să apară combinații noi de caractere. Astfel, Luther Burbanck (1939) a descoperit la hibrizii interspecifici numeroase caractere noi. De pildă, prin încrucișarea garoafei albe cu cea roșie au apărut plante hibride, la care florile erau dimineața albe, la amiază roze și seara roșii. La fel, prin încrucișarea a două specii de margarete africane, una cu flori albe și alta cu flori portocalii, L. Burbanck a obținut o margaretă cu flori roz.

Un exemplu interesant de apariție de caractere noi la hibrizi este crinul violet. Prin încrucișarea crinului galben *(Lilium szovitsianum* Fisch.), ca mamă, cu crinul roșu *(L. thunbergianum* Schult.), ca tată, I. V. Miciurin a găsit în generația a treia o plantă care prezenta patru caractere noi : flori de culoare liliachie, antere și polen de culoare neagră, miros de violete și umbrelă radiculară. Nici unul dintre aceste caractere n-au existat la genitori și nici la strămoșii apropiați cunoscuți. Foarte interesantă este apariția umbrelei radiculare, umbrelă formată din rădăcini adventive concrescute, care îmbracă toată partea superioară a bulbului pentru a-l feri de umiditatea excesivă, care-l face să putrezească și să piară. Acest caracter nou a apărut în procesul de adaptare a plantei hibride la condițiile nefavorabile de existență.

Un alt exemplu clasic de apariție de caractere noi a fost observat de J. P. Lotsy (1916) la hibrizii dintre diferitele specii ale genului *Antirrhinum.* J. P. Losty a reușit să izoleze dintre plantele hibride o formă nouă, *Antirrhinum rhinanthoides,* care are toate caracterele și însușirile unei specii noi.

În prezent sînt cunoscute nenumărate exemple de apariție a unor combinații noi de caractere la plantele hibride.

Hibridarea naturală interspecifică este relativ comună în lumea plantelor și mai rară la animale. După datele lui E. Mayr (1963) la păsări aproximativ 1/60 000 exemplare este hibrid, iar după cele ale lui E. R. Hall (1943) aproximativ 6/100 000 indivizi de mamifere sînt hibrizi. La reptile hibridarea naturală este mai rară, iar la amfibieni frecvența sa este mai mare. Cea mai mare frecvență o prezintă hibridarea interspecifică la pești, datorită faptului că fecundația este de regulă externă. La nevertebrate există relativ puține date privind hibridarea naturală, însă în general se consideră că frecvența hibrizilor este foarte redusă.

Un fenomen important ce a fost observat relativ de multă vreme este că în captivitate se realizează mult mai ușor hibridarea la animale, decît în condiții naturale. De pildă, în grădinile zoologice se obțin adesea hibrizi între specii relativ îndepărtate filogenetic, în timp ce în condiții naturale astfel de hibrizi n-au fost observați niciodată.

S-au obținut astfel hibrizi între tigru ♀ × leu ♂ care se cheamă *ligri,* între leu ♀ × tigru ♂ care se numesc *tigoni,* între leu × leopard

care sînt denumiţi *leoponi,* între panteră şi puma, ursul alb × ursul brun, cîine × şacal, cîine × lup, cal × zebră, oaie × capră etc. Cauza pentru care în captivitate animalele se hibridează mai uşor constă în mărirea considerabilă a activităţii sexuale, dispariţia izolării geografice şi a paradei nupţiale etc.

## FERTILITATEA ŞI STERILITATEA LA HIBRIZII INTERSPECIFICI

Cercetările privind hibridarea interspecifică la diverse specii şi genuri de plante au arătat că hibrizilor îndepărtaţi le sînt proprii anumite particularităţi, care îi deosebesc de hibridarea în interiorul speciei. Cea mai importantă caracteristică a hibrizilor îndepărtaţi o constituie o mare *variabilitate în ce priveşte fertilitatea.* Astfel există hibrizi interspecifici complet fertili, alţii complet sterili, precum şi nenumărate forme cu fertilitate parţială sau limitată la un sex. Iată cîteva exemple în acest sens : din încrucişarea speciilor *Platanus orientalis* originar din sudul Europei cu *P. occidentalis* originar din America a rezultat specia hibridă *P. acerifolia,* la care plantele sînt viguroase, manifestă heterozis şi sînt complet fertile. Hibrizii între cal *Equus cabalus)* şi asin *(E. asinus)* sînt, indiferent de sensul încrucişării, complet sterili. De asemenea, hibridul între ridiche *(Raphanus sativus)* şi varză *(Brassica oleracea),* deşi manifestă în $F_1$ un heterozis puternic, este complet steril. Hibrizii între speciile *Drosphila pseudoobscura* × *D. persimilis în* $F_1$ prezintă următoarea situaţie : masculii sînt sterili, iar femelele sînt parţial fertile. La hibrizii *D. miranda* × *D. pseudoobscura,* în $F_1$ masculii sînt anormali şi în număr redus, iar femelele sînt sterile. În alte cazuri, de pildă la încrucişarea între vaca de lapte (*Bos taurus)* cu bizonul american *(B. bizon),* femelele din $F_1$ sînt normale, iar masculii sînt sterili şi anormali, încît animalele pier tinere. În sfîrşit există cazuri cînd în $F_1$ nu se obţine decît un singur sex. De pildă prin încrucişarea a două specii de raţe *(Anas platyrhyncha* ♀ × *Cairinia moschata* ♂) în $F_1$ apar numai msaculi şi animale intersexuate care seamănă la exterior cu masculii, dar de fapt sînt femele foarte modificate şi care au ovarul rudimentar. Hibridul reciproc *C. moschata* ♀ × *A. platyrhyncha* ♂ prezintă în $F_1$ ambele sexe, dar indivizii sînt complet sterili.

Ţinînd seama de această caracteristică a hibrizilor interspecifici, s-au elaborat diferite metode pentru eliminarea sterilităţii. O primă metodă, folosită cu rezultate bune încă de multă vreme, este *retroîncrucişarea hibrizilor din* $F_1$ *(backcross) cu unul dintre genitori.* De pildă, la hibrizii între grîu (genul *Triticum)* şi secară (genul *Secale),* deşi hibridarea nu este prea grea, totuşi, ca regulă, plantele hibride în prima generaţie sînt sterile. Pentru înlăturarea sterilităţii, hibrizii din $F_1$ se polenizează cu polen de la unul din genitori. În mod similar la animale, hibrizii dintre

taurine (*B. taurus*) și Jak (*B. poephagus gruniensis*) în $F_1$ sînt : masculii sterili și femelele fertile. Pentru obținerea de descendenți, femelele se retroîncrucișează cu *B. taurus*.

Sterilitatea hibrizilor interspecifici în $F_1$ poate fi înlăturată și pe alte căi. Cercetările efectuate mai ales în ultimele trei decenii au arătat că *fertilitatea hibrizilor interspecifici se poate restabili prin dublarea numărului de cromozomi cu ajutorul colchicinei.* Sterilitatea hibrizilor îndepărtați între specii cu un număr diferit de cromozomi se datorește faptului că în garniturile cromozomale ale hibridului cromozomii nu se află sub forma de perechi, și din această cauză procesul de diviziune meiotică este tulburat. Dublarea numărului de cromozomi și deci restabilirea perechilor în garniturile de cromozomi provenind de la speciile genitoare duce la restabilirea fertilității hibrizilor prin aceea că meioza se poate desfășura normal. Rezultate bune s-au obținut la graminee prin metoda tratării semințelor hibride sau a plantulelor hibride din $F_1$ cu soluții de colchicină. Se obțin astfel *amfidiploizi,* organisme care înglobează numărul de cromozomi somatici ai genitorilor. Printre amfidiploizii obținuți pe această cale pot fi citați : *Triticum durum* × *T. aestivum, T. durum* × *T. monococcum, T. durum* × *T. Timooheevi, T. polonicum* × *T. durum, T. polonicum* × *T. Timopheevi, T. persicum* × *T. Timopheevi, T. aestivum* × *Secale cereale, T. turgidum* × *Aegilops speltoides, T. durum* × *Secale montanum, Crepis fulifinosa* × *C. neglecta* etc.

În sfîrșit, o altă cale prin care se pot obține hibrizi interspecifici este *metoda separării embrionului de endosperm și cultura sa pe mediu artificial.* Această metodă se bazează pe observația că în cazul încrucișării unor specii prea îndepărtate filogenetic, embrionul nu poate crește datorită incompatibilității sale genetice cu endospermul triploid, care posedă deci două garnituri de cromozomi materni și o garnitură de cromozomi paterni. De aceea se separă embrionul de endosperm și se cultivă separat pe un mediu nutritiv artificial. Prin această metodă s-a reușit hibridarea interspecifică între specii foarte îndepărtate filogenetic.

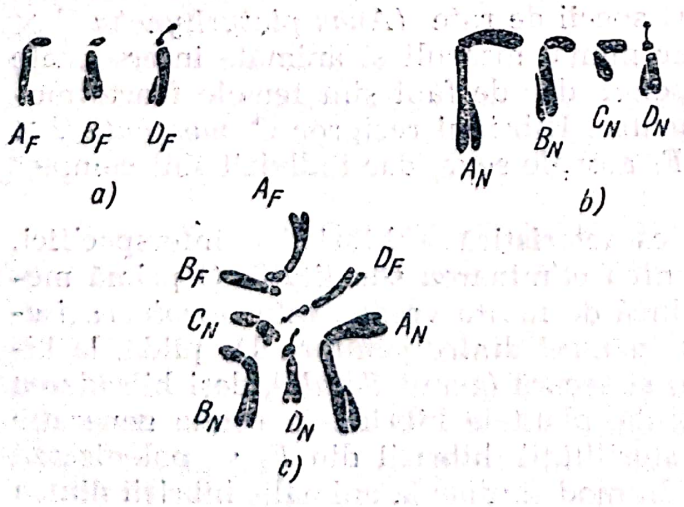



Fig. 98. Cromozomii somatici la *Crepis fuliginosa* (a), la *C. neglecta* (b) și la amfiploidul respectiv (c) (după Fobgy, 1943).

## AMFIPLOIDIA

În anul 1917 Q. Winge a emis ipoteza că *numeroase specii în natură sînt la origine hibrizi interspecifici poliploizi, adică amfidiploizi.* Această ipoteză a fost ulterior confirmată experimental, dovedindu-se că multe specii spontane sau cultivate sînt amfiploide. Printre acestea pot fi citate :

grîul comun *(Triticum aestivum)* ..... $2n = 42$;
bumbacul *(Gossypium hirsutum)* ..... $2n = 52$;
trestia de zahăr *(Saccharum officinarum)* ..... $2n = 80$;
tutunul *(Nicotiana tabacum)* ..... $2n = 48$;
*Spartina townsendii* ..... $2n = 126$;
*Phleum pratense hexaplodium* ..... $2n = 42$.

Amfiploidia în funcţie de modul cum ia naştere poate fi de mai multe tipuri :

*Amfiploidie genomică sau clasică* este acel tip de amfiploidie care provine prin hibridarea între specii cu genomuri complet diferite (de pildă *A A* şi *B B*), astfel că cromozomii unuia nu se pot împerechea cu cromozomii celeilalte şi planta este sterilă. Prin dublarea numărului de cromozomi se obţine un amfidiploid *A A B B* fertil la care în meioză cromozomii se află sub formă de bivalenţi, iar procesul meiozei este similar celui de la plantele diploide.

*Amfiploidia segmentală* este tipul de amfiploidie care provine prin hibridarea unor specii cu genomuri parţial sau complet omologe, astfel că după ce se realizează dublarea numărului de cromozomi, aceştia în meioză nu se împerechează cîte doi normal, ci formează într-o anumită măsură tetravalenţi, trivalenţi şi univalenţi, asemănător cu fenomenul la autopoliploidie. Bineînţeles că o astfel de împerechere anormală a cromozomilor determină un grad relativ ridicat de sterilitate al hibrizilor. De pildă, dacă se încrucişează două plante cu genomurile *A* şi *A'* parţial sau total omologe, aceasta înseamnă că în

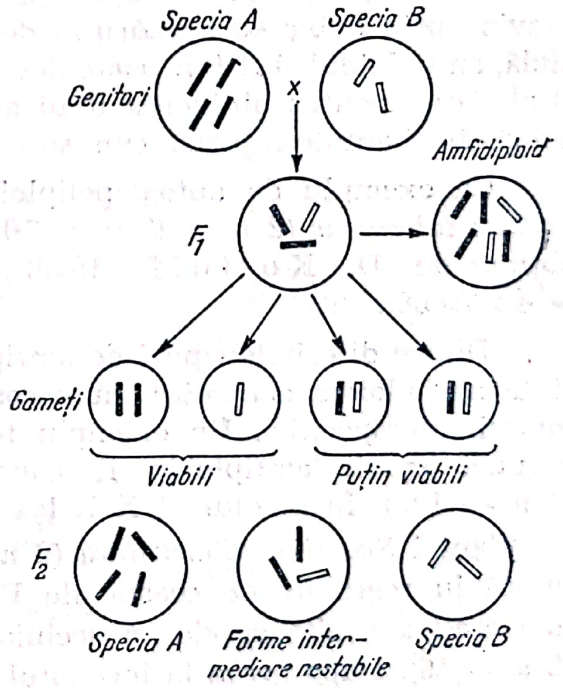



Fig. 99. Schema hibridării între două specii din care se obţine un amfidiploid sau în care hibridul din $F_1$ segregă şi determină în $F_2$ reapariţia genitorilor şi a unor forme intermediare nestabile.

meioză la amfiploidul $A\ A\ \ A'\ A'$, cromozomii genomului $A$ nu se vor împerechea exclusiv cu cei ai celuilalt genom $A$, ci se vor împerechea parțial și cu genomurile $A'\ A'$, astfel că se formează tetravalenți.

Ca exemple de amfiploidie segmentală pot fi considerate speciile de plante *Delphinium gypsophilum, Berberis candidula, Aesculus carnea, Primula kewensis* etc. De pildă, alopoliploidul *Primula kewensis* ($2\ n = 36$) obținut de către *L. Digby* (1912) prin încrucișarea speciilor *P. floribunda* ($2\ n = 18$) × *P. verticillata* ($2\ n = 18$) prezintă un număr mare de multivalenți în meioză și are un grad înalt de sterilitate. Aceasta datorită faptului că genitorii au genomuri analoge, iar la tetraploidul obținut prin hibridare se formează numeroși tetravalenți, trivalenți și univalenți, astfel că procesul meiozei decurge anormal.

În cazul cînd cromozomii ce se împerechează în procesul de meioză derivă din genitori diferiți, are loc formarea de bivalenți, iar fenomenul se cheamă *alosindeză*. Acest fenomen se observă la *amfiploidia genomică*.

Dacă însă cromozomii ce se împerechează în meioză derivă din genitori originari din același strămoș, are loc formarea de multivalenți, iar fenomenul ce se cheamă *autosindeză* se observă la *amfiploidia segmentală*.

*Autoalopoliploidia* este cel de-al treilea tip de amfiploidie care provine prin dublarea numărului de cromozomi ai unui amfidiploid. De pildă, amfiploidul $A\ A\ B\ B$ poate deveni autoalooctoploid $A\ A\ A\ A\ B\ B\ B\ B$. O altă cale pentru obținerea unui autoalooctoploid este hibridarea între doi genitori autotetraploizi, cum sînt $A\ A\ A\ A$ și $B\ B\ B\ B$.

Ca exemplu de autoalopoliploid poate fi dat hibridul între *Helianthus tuberosus* ($2\ n = 6\ x = 102$) × *H. annuus* ($2\ n = 2\ x = 34$), obținut de D. Kostoff (1939) și care era un tetraploid ($2\ n = 4\ x = 68$).

Dintre diferitele tipuri de amfiploizi, o importanță deosebită o prezintă amfiploidia genomică, numeroase specii fiind la origine astfel de hibrizi interspecifici. Un exemplu foarte interesant de apariție recentă a unei specii amfiploide îl constituie planta *Spartina townsendii* ($2\ n = 126$). În secolul al XIX-lea au fost aduse din America semințe ale plantei *Spartina alterniflora* ($2\ n = 70$), care a început să se înmulțească în regiunile de coastă ale Franței și Angliei. În aceste regiuni mai creștea o altă specie a aceluiași gen, și anume *Spartina stricta* ($2\ n = 56$). După aceea la începutul secolului al XX-lea s-a constatat că speciile *S. alterniflora* și *S. stricta* au început să fie înlocuite de o alta mai viguroasă, și anume *S. townsendii*. Studiul acesteia a arătat că ea este de fapt un amfiploid care a luat naștere prin hibridarea celorlalte două specii și care înglobează genomurile lor.

Scanned with OKEN Scanner

Un interes deosebit îl prezintă cercetările privind originea grîului, plantă de mare importanță economică la care există specii diploide, tetraploide și hexaploide, cum sînt :

| Speciile | Numărul haploid de cromozomi | Formula genomică a speciei |
|---|---|---|
| *T. aegilopoides* (2 *n* = 14) | 7 | A A |
| *T. monococcum* (2 *n* = 14) | 7 | A A |
| *T. dicoccoides* (2 *n* = 28) | 14 | A A B B |
| *T. dicoccum* (2 *n* = 28) | 14 | A A B B |
| *T. turgidum* (2 *n* = 28) | 14 | A A B B |
| *T. persicum* (2 *n* = 28) | 14 | A A B B |
| *T. polonicum* (2 *n* = 28) | 14 | A A B B |
| *T. durum* (2 *n* = 28) | 14 | A A B B |
| *T. timopheevi* (2 *n* = 28) | 14 | A A G G |
| *T. armeniacum* (2 *n* = 28) | 14 | A A G G |
| *T. spelta* (2 *n* = 42) | 21 | A A B B D D |
| *T. aestivum* (2 *n* = 42) | 21 | A A B B D D |
| *T. macha* (2 *n* = 42) | 21 | A A B B D D′ |
| *T. vavilovi* (2 *n* = 42) | 21 | A A B B D D |
| *T. compactum* (2 *n* = 42) | 21 | A A B B D D |
| *T. sphaerococcum* (2 *n* = 42) | 21 | A A B B D D |

Formele diploide au genomul *A A*, cele tetraploide *A A B B* sau *A A G G* (genomurile *B* și *G* sînt omologe), iar cele hexaploide *A A B B D D*. În ceea ce privește originea genomurilor s-a demonstrat

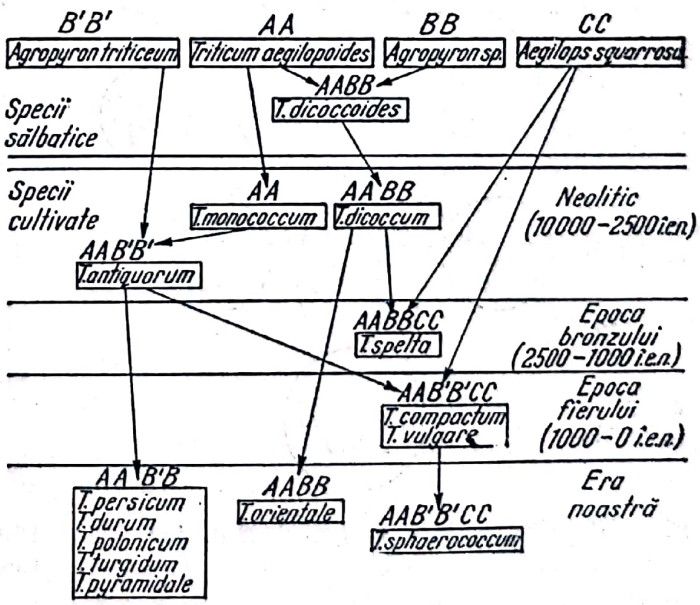



Fig. 100. Evoluția prin amfiploidie în cadrul genului *Triticum* (după Singleton, 1964).

că genomul *A* provine de la formele diploide de grîu *T. monococcum* sau *T. aegilopoides*, *B* provine de la *Aegilops speltoides* sau *Agropyron triticeum*, iar *D* de la *Aegilops squarrosa*. Prin încrucișarea formelor diploide de grîu, cum este, de pildă, *T. monococcum* ($2n = 14$) cu *Aegilops speltoides* ($2n = 14$), s-au obținut forme tetraploide de grîu, iar prin încrucișarea acestora cu *Aegilops squarrosa* ($2n = 14$) s-au realizat forme hexaploide de grîu. De pildă E. S. Mac Fedden și E. R. Sears (1944) au efectuat hibridarea :

$$\frac{\text{Triticum dicoccoides}}{(2n = 28)} \times \frac{\text{Aegilops squarrosa}}{(2n = 14)} = \frac{\text{T. spelta}}{(2n = 42)}$$

iar mai tîrziu H. Kihara și F. Lilienfeld (1949) au efectuat hibridarea :

$$\frac{\text{Triticum persicum}}{(2n = 28)} \times \frac{\text{Aegilops squarrosa}}{(2n = 14)} = \frac{\text{T. aestivum}}{(2n = 42)}$$

În acest fel s-a dovedit că grîul cultivat *(T. aestivum)*, cea mai cultivată specie de grîu de pe glob, este un amfiploid la formarea căruia au participat trei specii diferite.

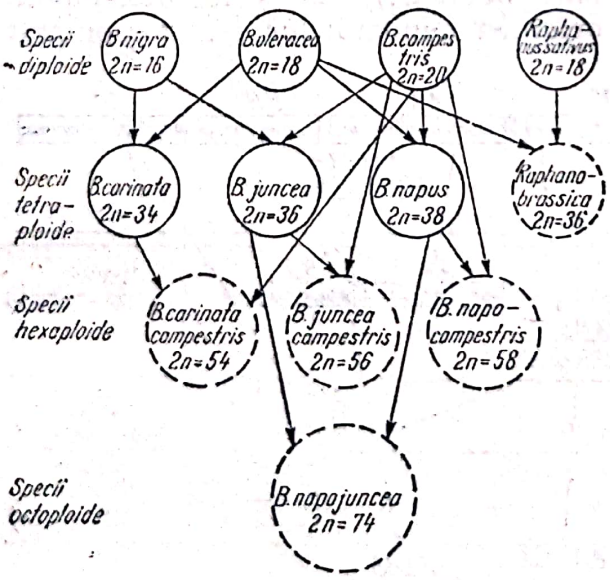



Fig. 101. Amfiploidia la genul *Brassica*.

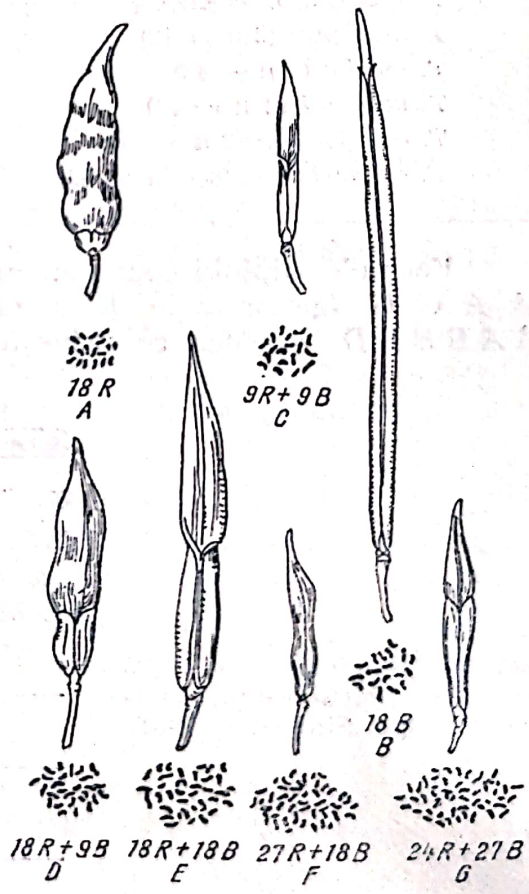



Fig. 102. Cromozomii și silicvele la mai multe specii diploide și amfiploide de *Brassica*.

Un fapt care prezintă însă o importanță deosebită teoretică și practică este realizarea *sintezei artificiale a unor specii noi* necunoscute în natură. Pentru prima oară acest fenomen s-a realizat în anul 1927 cînd G. D. Karpecenko a încrucișat varza *(Brassica oleracea,* $2n = 18$) cu ridichea *(Raphanus sativus,* $2n = 18$) și a obținut un hibrid steril, la care însă după un anumit timp de vegetație s-au format cîteva semințe pe o ramură datorită dublării numărului de cromozomi. În acest fel a fost sintetizată specia artificială *Raphanobrassica* ($2n = 36$) care se deosebește de speciile genitoare și care însumează genomurile lor. Ulterior s-au mai obținut în genul *Brassica* patru specii artificiale, și anume :

1. $\frac{\text{B. campestris}}{(2n = 20)} \times \frac{\text{B. carinata}}{(2n = 34)} = \frac{\text{B. carinatacampestris}}{(2n = 54)}$

2. $\frac{\text{B. campestris}}{(2n = 20)} \times \frac{\text{B. juncea}}{(2n = 36)} = \frac{\text{B. junceacampestris}}{(2n = 56)}$

3. $\frac{\text{B. campestris}}{(2n = 20)} \times \frac{\text{B. napus}}{(2n = 38)} = \frac{\text{B. napocampestris}}{(2n = 58)}$

4. $\frac{\text{B. juncea}}{(2n = 36)} \times \frac{\text{B. napus}}{(2n = 38)} = \frac{\text{B. napojuncea}}{(2n = 74)}$

Un alt exemplu devenit clasic de specie amfiploidă artificială îl constituie *Triticale* ($2n = 56$), realizat prin încrucișarea dintre *Triticum aestivum* ($2n = 42$) și *Secale cereale* ($2n = 14$). Noul amfiploid prezintă pe lîngă importanța teoretică și una practică, legată de posibilitatea obținerii unei cereale care să îmbine calitățile de panificație ale grîului cu rezistența secarei la condiții nefavorabile. Cercetări vaste în această direcție au fost începute de A. Müntzing la Institutul de Genetică de la Lund în Suedia, care a constatat că dacă în primele generații plantele de *Triticale* dau o producție neprezentînd mai mult de 50% din cea a grîului, după mai mulți ani producția crește progresiv, încît ajunge la nivelul grîului. În laboratorul de genetică de la Facultatea de biologie — București există în prezent o colecție de peste 40 de tipuri de *Triticale,* originare din diferite țări de pe glob, care sînt supuse unor studii citogenetice complexe.

Numărul amfiploizilor artificiali a crescut considerabil în ultimii ani, mai ales datorită elaborării unei metode practice de eliminare a sterilității hibrizilor interspecifici. Astfel, după ce se realizează hibridarea între speciile respective, semințele hibride *(Fo)* sau plăntuțele sînt tratate cu colchicină, ceea ce duce la dublarea numărului de cromozomi, iar plantele devin fertile. Cercetări foarte vaste s-au efectuat mai ales la

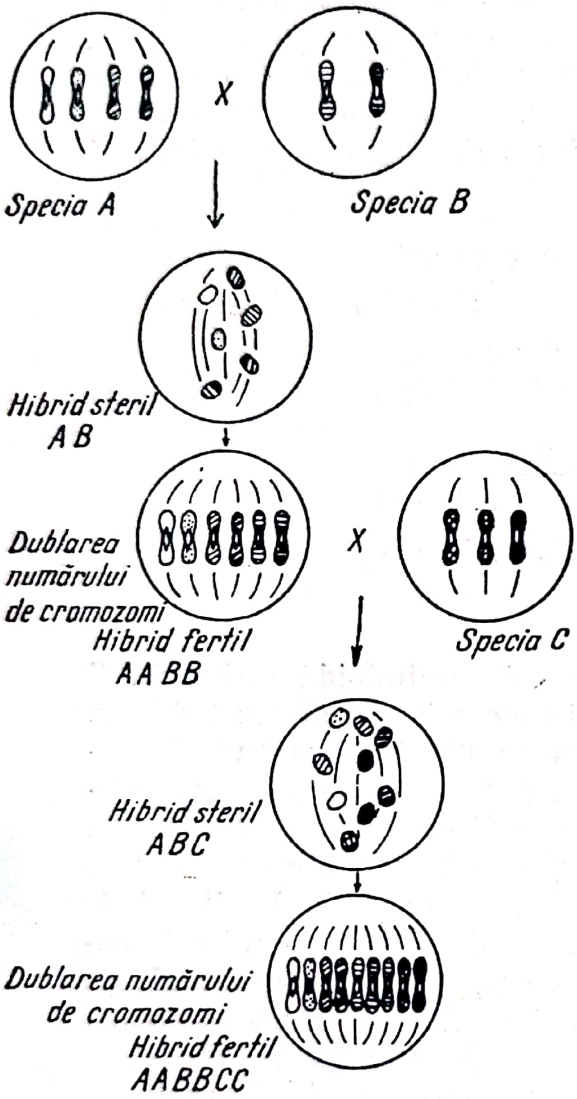



Fig. 103. Schema obținerii unui amfiploid între 3 specii diferite.

graminee, la care s-au obținut numeroși amfiploizi interspecifici și intergenerici necunoscuți în natură. De altfel trebuie arătat că la graminee au fost elaborate metode speciale de inducere a poliploidiei la hibrizi, astfel că a devenit posibilă realizarea relativ rapidă a unor amfiploizi între specii și genuri diferite. Printre geneticienii care au lucrat mai mult în acest domeniu pot fi citați : A. Müntzing în Suedia, H. Kihara în Japonia, A. R. Jebrak și N. V. Țîțîn în Uniunea Sovietică, R. Riley și G. D. H. Bell în Anglia, E. R. Scars și F. C. Elliott în Statele Unite, B. C. Jenkins în Canada, M. Simonet și I. Cauderon în Franța etc. La noi în țară, cercetări privind amfiploidia la graminee au efectuat Al. Priadcenco, P. Raicu și alții.

Pentru producerea masivă de plante de *Triticale* cu posibilități de folosire practică, A. Müntzing (1951) recomandă următoarele patru metode :

*1.* Încrucișarea între plantele hibride (grîu × secară) din $F_1$ și selecția amfiploizilor în generațiile următoare în care are loc segregarea.

*2.* Tratamentul cu colchicină a plantelor hibride din $F_1$ și după aceea încrucișarea între amfiploizii obținuți.

*3.* Încrucișarea între plantele de *Triticale* și *T. aestivum* în vederea obținerii unor recombinări genetice, în special plante amfiploide cu caractere de grîu.

*4.* Polenizarea plantelor hibride (grîu × secară) din $F_1$ cu polen de la *Triticale*, astfel că în descendență apar tipuri noi de amfiploizi.

La graminee s-a reușit ca prin folosirea unor metode variate să se obțină amfiploizi artificiali între genuri

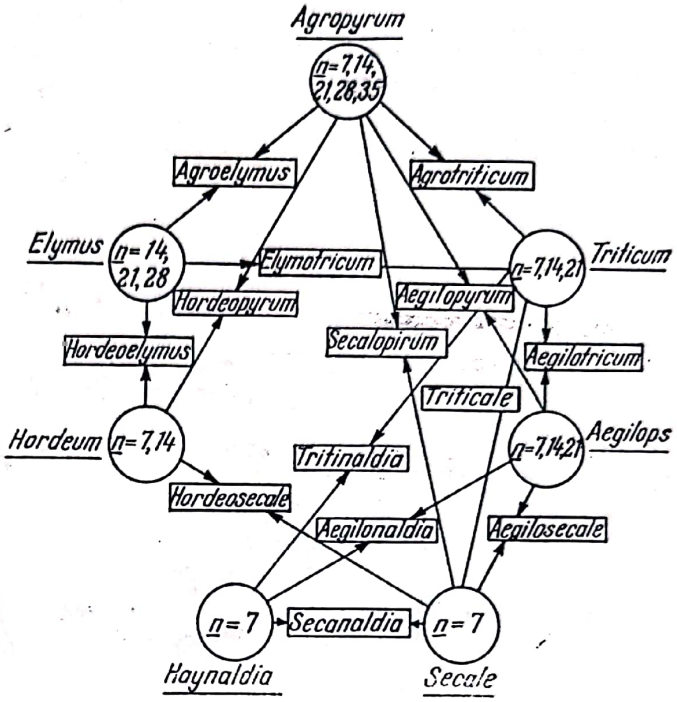



Fig. 104. Hibrizii interspecifici la graminee (după Simonet, 1957).

foarte diferite, cum sînt : *Triticum, Secale, Hordeum, Elymus, Agropyrum, Aegilops* și *Haynaldia.* Acești amfiploizi constituie specii noi experimentale, care prezintă deosebiri morfo-fiziologice și biochimice importante față de genitori, avînd totodată un genotip diferit.

## NOȚIUNI DE CITOGENETICA HIBRIZILOR INTERSPECIFICI

La hibrizii interspecifici meioza prezintă o seamă de particularități care explică sterilitatea totală sau parțială a organismelor respective, precum și fenomenul de recombinare genetică care duce la apariția de forme cu un alt complex de caractere și în unele cazuri chiar la specii noi.

Prin încrucișarea a două specii cu același număr sau cu număr diferit de cromozomi, de obicei în $F_1$ hibrizii sînt total sterili datorită faptului că în meioză cromozomii celor două specii fiind neomologi se dispun sub formă de univalenți. Ca urmare migrarea cromozomilor spre polii celulei se face neregulat și de aceea gameții prezintă un număr variabil de cromozomi și sînt sterili.

În ceea ce privește cromozomii somatici, hibrizii interspecifici atît la plante cît și la animale prezintă un număr intermediar între genitori. De pildă, în cercetările noastre (P. Raicu și colab. 1967) hibridul interspecific *Mesocricetus auratus* (2 $n$ = 44) × *M. newtoni*

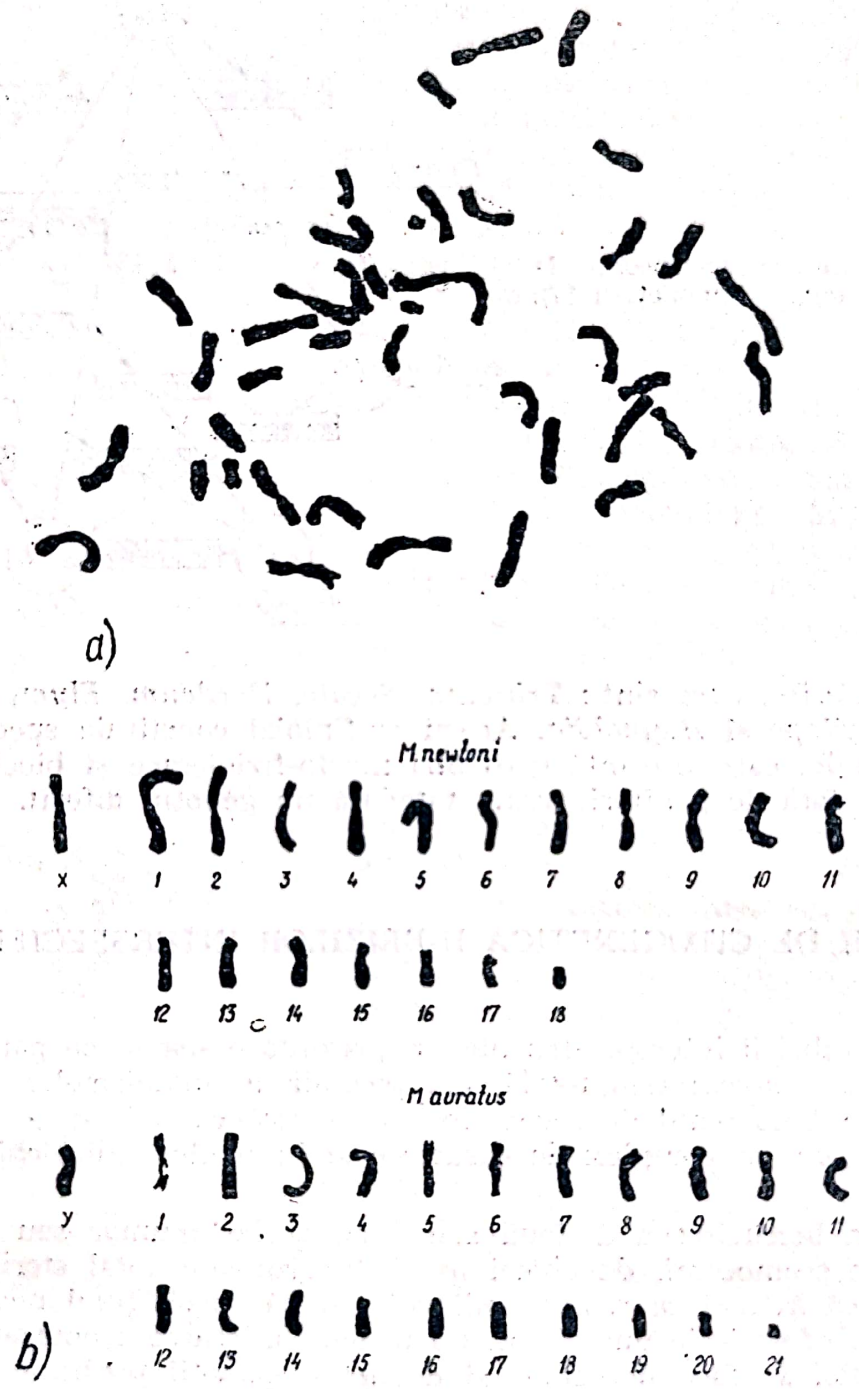



Fig. 105. Metafază (a) și cariotipul respectiv (b) la un mascul hibrid interspecific (*Mesocricetus auratus* × *M. newtoni*), care are 2 $n = 41$ (original).

Scanned with OKEN Scanner

($2n = 38$), are $2n = 41$ și este complet steril. Cariotipul hibridului este caracteristic, el conținînd jumătate din numărul de cromozomi somatici de la speciile genitoare. Din cauza neomologiei, cromozomii în meioză rămîn sub formă de univalenți, fapt care determină sterilitatea hibrizilor. Hibridul *Raphanus sativus* ($2n = 18$) x *Brassica oleracea* ($2n = 18$) are în $F_1$ tot $2n = 18$ cromozomi și este complet steril. Dacă însă sub influența colchicinei sau a altor factori poliploidizanți se realizează dublarea numărului de cromozomi ($2n = 36$), atunci în meioză se formează 18 bivalenți și distribuția cromozomilor în gameți are loc normal. Ca urmare, gameții vor avea $n = 18$ și vor fi fertili. Acest hibrid interspecific obținut de G. D. Karpecenko este cunoscut sub denumirea de *Raphanobrassica,* fiind un amfiploid genomic complet fertil.

În mod similar prin încrucișarea între *Rubus idaeus* ($2n = 14$) cu genomurile I I și *R. caesius* ($2n = 28$) cu genomurile $C_1$ $C_1$ $C_2$ $C_2$ se obțin în $F_1$ plante triploide ($2n = 21$), cu genomurile I $C_1$ $C_2$, complet sterile datorită neomologiei cromozomilor. Prin tratarea cu colchicină se realizează hexaploidizarea acestor plante, care devin amfiploizi ($2n = 42$) fertili cu genomurile I I $C_1$ $C_1$ $C_2$ $C_2$. Prin retroîncrucișarea (backcross) amfiploizilor cu unul sau altul dintre genitori se obțin forme tetraploide sau pentaploide în felul următor :

Amfiploid (I I $C_1$ $C_1$ $C_2$ $C_2$) × *R. idaeus* (II) → Hibrid $4n$ (I I $C_1$ $C_2$).
Amfiploid (I I $C_1$ $C_1$ $C_2$ $C_2$) × *R. caesius* ($C_1$ $C_1$ $C_2$ $C_2$) → Hibrid $5n$ (I $C_1C_1C_2C_2$).

În cazul amfiploizilor segmentali meioza se desfășoară diferit datorită omologiei parțiale a cromozomilor. Astfel din încrucișarea speciei *Primula floribunda* ($2n = 18$) din Afganistan cu *P. verticillata* ($2n = 18$) din Arabia, s-a format un hibrid steril care prin dublarea numărului de cromozomi a dat naștere speciei *P. kewensis* ($2n = 36$) un amfiploid parțial fertil. Resinteza artificială a acestei specii s-a realizat încă în 1912 de L. Digby. În ceea ce privește meioza s-a constatat că la acest amfiploid se formează nu 18 bivalenți, cum ar fi trebuit în mod normal, ci apar și cîțiva tetravalenți, care indică faptul că între genomurile celor două specii genitoare există unii cromozomi omologi. Ca urmare, amfiploidul respectiv este numai parțial fertil.

Prin studiul citogenetic al unor hibrizi interspecifici de grîu s-a pus în evidență omologia nu numai a unor cromozomi, ci chiar a unor genomuri. Astfel, prin încrucișarea grîului tetraploid *Triticum durum* ($2n = 28$) cu genomurile *A A B B* cu grîul hexaploid *T. aestivum* ($2n = 42$) cu genomurile *A A B B D D* se obține în $F_1$ un hibrid pentaploid ($2n = 35$) fertil și instabil, de tip intermediar între genitori, cu genomurile *A A B B D*. Studiul meiozei la acest hibrid (P. Raicu, 1966) arată că el prezintă $14_{II}$ și $7_I$, fapt care indică existența a două genomuri omologe (*A* și *B*) la cele două specii genitoare și a unui al treilea

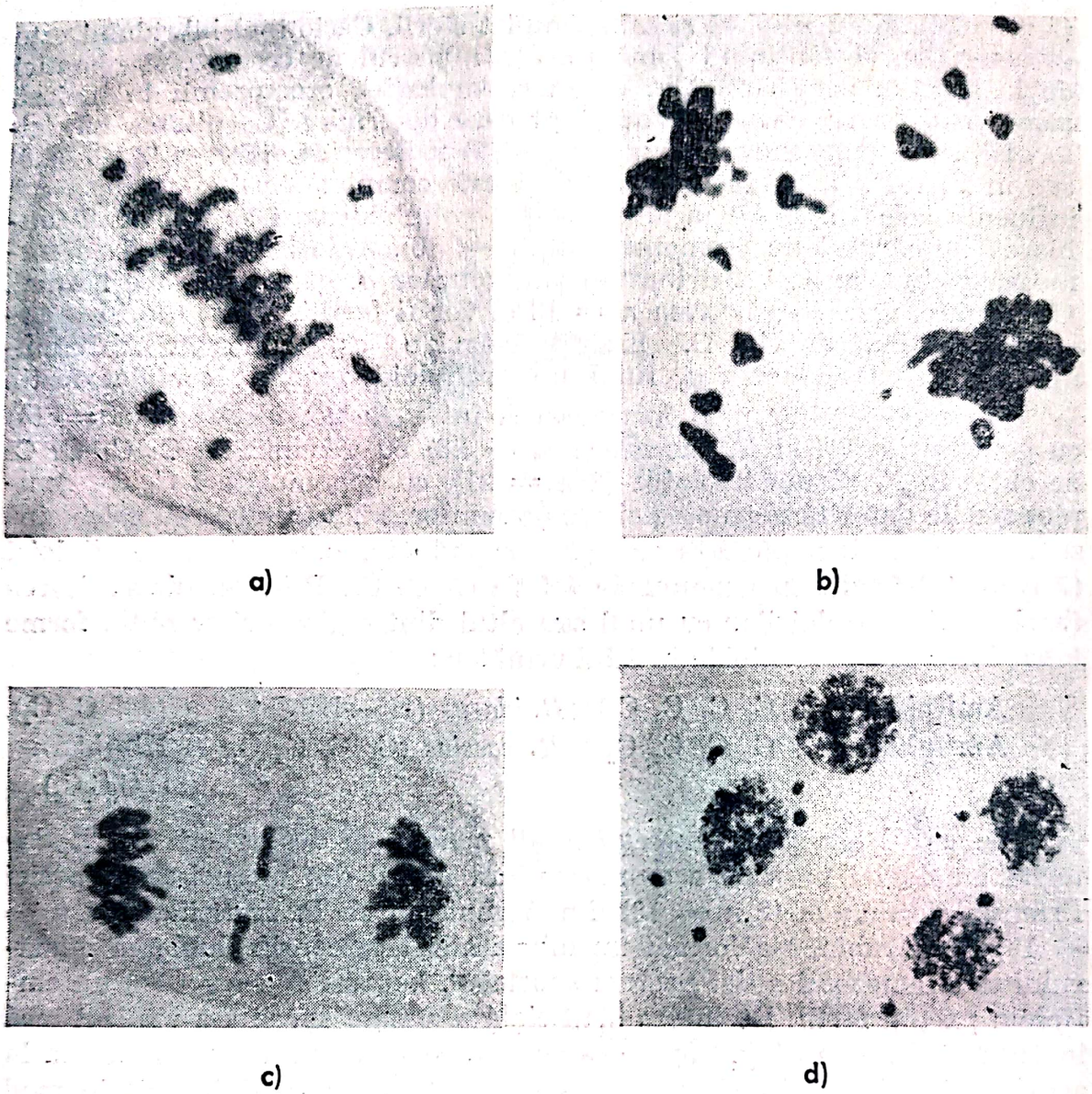



Fig. 106. Meioza la *T. durum* × *T. aestivum* în $F_1$ : metafaza I cu $14_{II}$ și $7_I$ (a), anafaza I și telofaza I cu cromozomi întîrziați (b, c) și tetradă cu micronuclei (d) (original).

genom diferit *(D)* care rămîne sub formă de univalenți. Plantele hibride din $F_1$ formează ca urmare gameți cu 14, 15, 16, ... 21 cromozomi, dintre care însă cei cu 14 și cu 21 cromozomi au o viabilitate mai mare. În procesul fecundației se formează zigoți și respectiv plante hibride ($F_2$) cu $2n = 28, 29, 30, 31 \ldots 42$ cromozomi. În urma segregării apar în $F_2$ plante cu un număr variat de cromozomi, dintre care însă mai numeroase sînt cele de tip parental : *durum* ($2n = 28$) și *aestivum* ($2n = 42$). Formele cu număr intermediar de cromozomi sînt sau mai apropiate de grîul tetraploid avînd $2n = 29, 30, \ldots 34$ sau mai apropiate de grîul hexa-

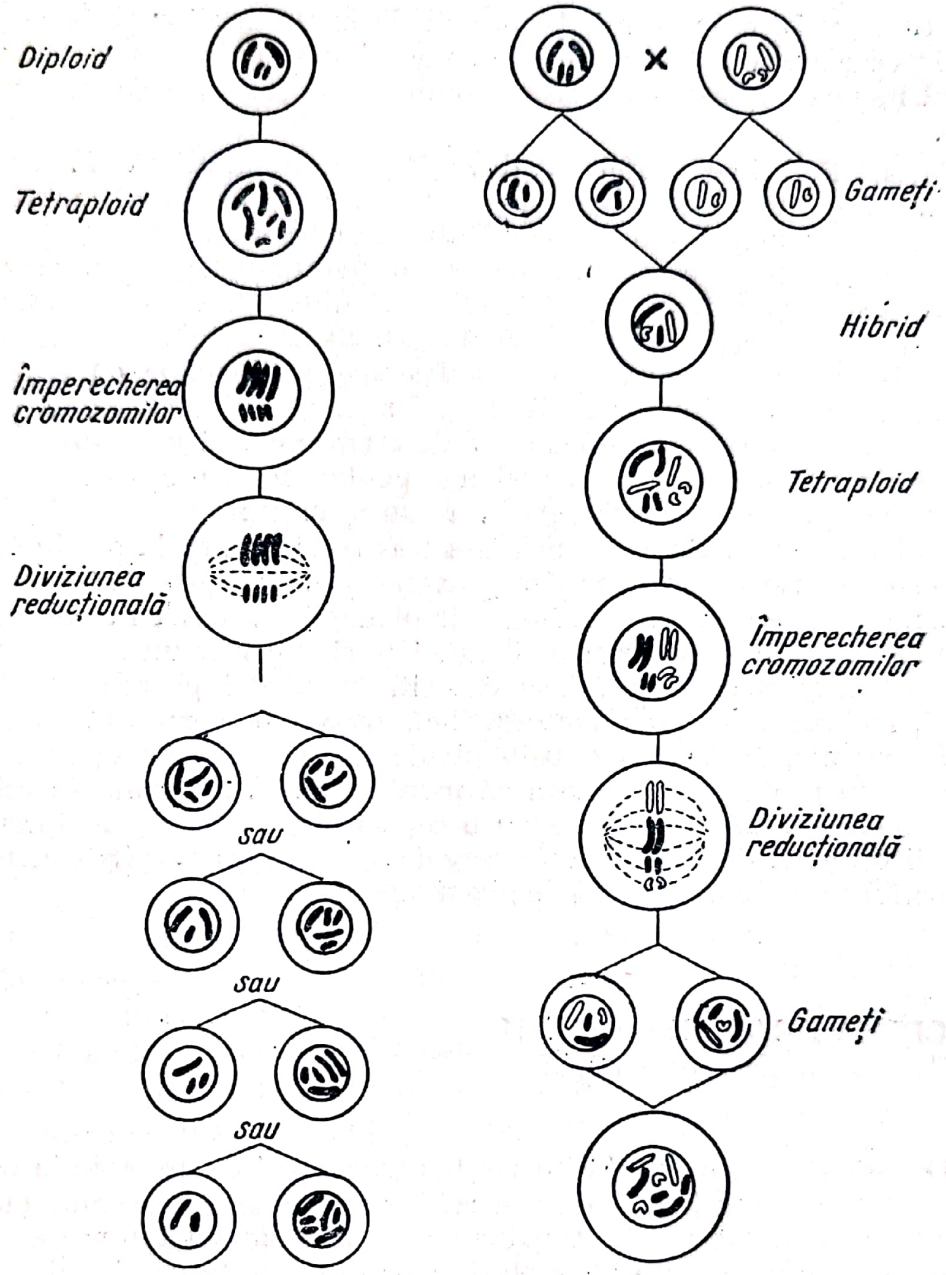



Fig. 107. Schema formării unui autotetraploid și a diviziunii sale reducționale (stînga) și a formării și diviziunii reducționale la un amfiploid (dreapta) (după Kühn, 1961).

ploid avînd 2 $n$ = 36, 37 ... 41. În felul acesta în $F_2$ reapar speciile genitoare, precum și forme intermediare nestabile care în generațiile următoare sînt eliminate. Ar fi greșit să se creadă însă că prin acest tip de hibridare interspecifică se obțin exact formele genitoare. În realitate în urma segregării în $F_2$ apar indivizi asemănători dar neidentici cu genitorii, din cauză că se produce o *recombinare genetică*. Astfel la hibrizii

din $F_2$ care au 28 cromozomi, 14 provin de la un genitor și 14 de la celălalt, între aceștia realizîndu-se fenomenul de recombinare genetică în procesul meiozei, atunci cînd cromozomii se conjugă pentru a forma bivalenți.

Recent R. Riley (1960) a dovedit experimental că *T. aestivum* a fost la origine un amfiploid segmental care însă a evoluat transformîndu-se într-un amfiploid genomic. După cum este cunoscut, meioza la *T. aestivum* se desfășoară tipic pentru o plantă amfiploidă, prezentînd 21 de bivalenți, în timp ce la amfiploizii segmentali se formează în meioză un număr variabil de multivalenți, datorită omologiei parțiale sau totale existente între genomurile genitorilor asemănător cu ceea ce se întîmplă la autopoliploizi. R. Riley a constatat însă că la plantele de grîu nulisomice pentru perechea V de cromozomi ($2n = 40$) în meioză se formează aproximativ 4% trivalenți, pentavalenți etc. În acest fel s-a reușit transformarea experimentală a unui amfiploid genomic într-un amfiploid segmental. De asemenea, s-a tras concluzia că la origine *T. aestivum* este un hibrid interspecific provenit prin încrucișarea între specii cu genomuri într-o anumită măsură omologe și de aceea în absența cromozomilor V se formează multivalenți. Ulterior printr-un mecanism „diploidizant" încă necunoscut, însă datorită prezenței perechii V de cromozomi, meioza a fost regularizată încît planta se comportă ca un amfiploid genomic, formînd exclusiv bivalenți. Această descoperire are și o importanță practică prin aceea că plantele de *T. aestivum* la care lipsește perechea V de cromozomi au o capacitate mai mare de încrucișare cu specii diferite, de pildă *Secale cereale* și *Aegilops longissima*, formîndu-se astfel un număr variabil de multivalenți.

## INDUCEREA DE TRANSLOCAȚII LA HIBRIZII INTERSPECIFICI

O metodă modernă folosită pentru transferul de gene de la o specie la alta este *iradierea hibrizilor pentru inducerea de translocații între genomurile celor două specii.* După cum se știe, datorită fenomenului de linkage al genelor plasate pe același cromozom, se transmit înlănțuite la descendenți atît caracterele utile cît și altele dăunătoare. La hibrizii interspecifici din $F_1$ frecvența recombinărilor genetice dintre genomuri este relativ redusă și ca urmare prin segregare se realizează divergența caracterelor și reapar tipurile genitoare. Prin iradierea hibrizilor din $F_1$ au loc numeroase rupturi de cromozomi și ca urmare pot apărea translocații între cromozomii celor două genomuri.

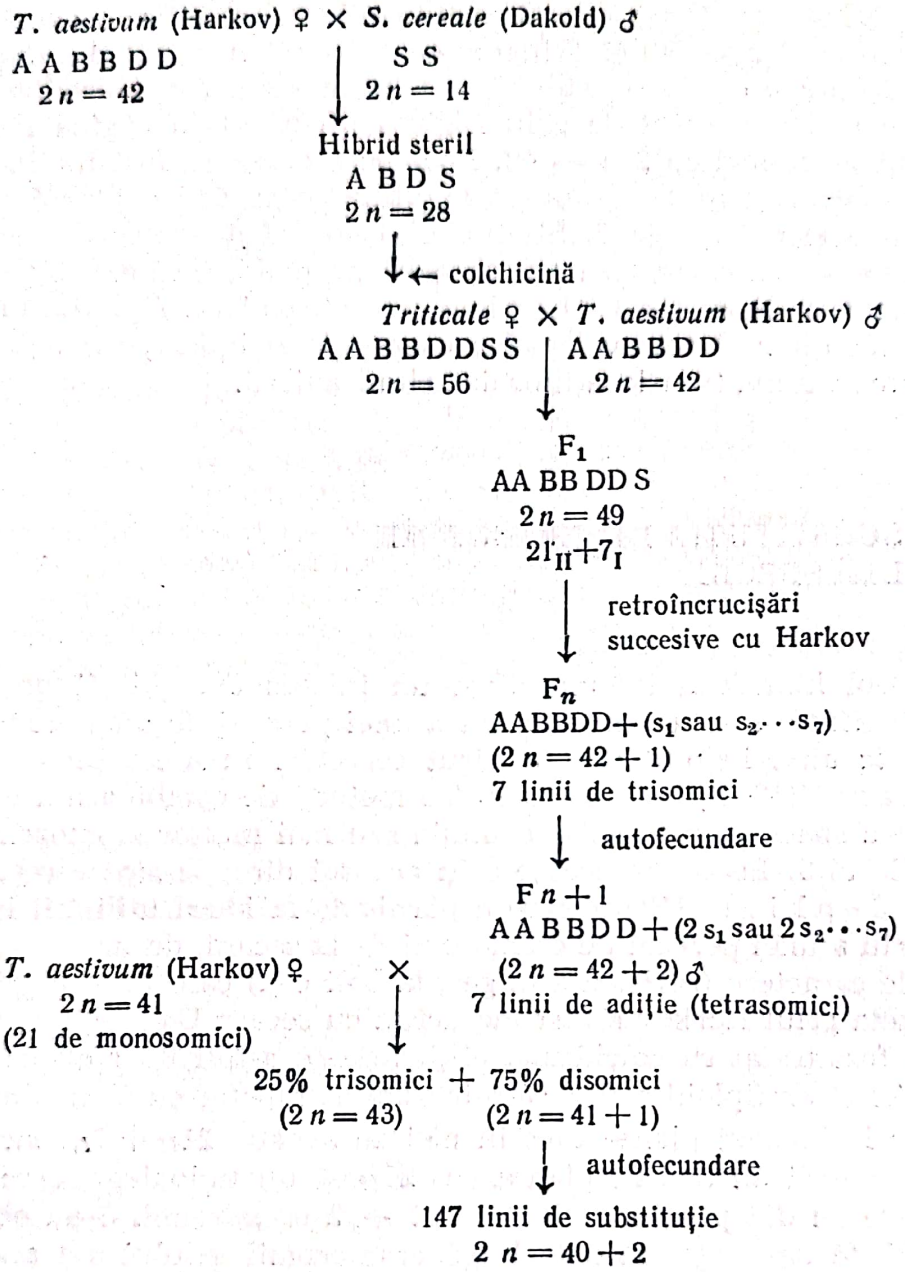
Primele cercetări în această direcție au fost cele ale lui E. R. Sears (1955), care a transferat rezistența la rugini de la *Aegilops umbellulata* la *Triticum aestivum,* prin iradierea hibrizilor din $F_1$.

F. C. Elliott (1957) a făcut încrucișări interspecifice între *Agropyron elongatum* (2 $n$ = 56) și *Triticum aestivum* (2 $n$ = 42) și a obținut un amfiploid cu 2 $n$ = 56 rezistent la rugina neagră. Acest amfiploid a fost retroîncrucișat cu soiul de grîu Elgin nerezistent la rugina neagră și s-a obținut un hibrid cu 2 $n$ = 49. Boabele hibride au fost iradiate cu o doză de 12 000 r și în $X_2$ a apărut în urma segregării o plantă rezistentă la rugină și cu 2 $n$ =42. Studiul citologic al descendenței acestei plante în $X_3$ a arătat că meioza era aproape normală, însă existau totuși cîțiva univalenți și chiar cîte un trivalent sau tetravalent. Apariția univalenților, trivalenților și tetravalenților constituie o indicație a heterozigoției apărute în urma translocațiilor datorită iradierii.

## ADIȚIA ȘI SUBSTITUȚIA DE CROMOZOMI DE LA O ALTĂ SPECIE

În cadrul hibridării interspecifice un interes deosebit îl prezintă *adiția și substituția unui cromozom sau a unei perechi de cromozomi, de la o specie la alta.* Primul care a făcut cercetări în acest sens a fost J. G. O'Mara (1940), care a elaborat o metodă de combinare a caracterelor a două specii prin transferul unuia sau mai multor cromozomi de la o specie la alta. Foarte interesante în această direcție sînt cercetările lui B. C. Jenkins (1956), care a pornit de la ideea utilității introducerii la grîu a unei perechi de cromozomi de la secară, deoarece aceasta posedă unele caractere (rezistență la ger, la boli etc.) care lipsesc grîului. Pentru aceasta grîul Harkov a fost încrucișat cu secara Dakold, iar hibridul steril a fost tratat cu colchicină, obținîndu-se astfel un amfiploid cu 2 $n$ = 56. Acest amfiploid a fost retroîncrucișat repetat cu soiul Harkov, obținîndu-se la început plante care în meioză aveau $21_{II} + 7_{I}$, iar apoi în urma segregării au apărut plante cu $21_{II}$ și un univalent, care prin autofecundare au dat plante cu 2 $n$ = 42 + 2 cromozomi. S-au obținut astfel 7 *linii de adiție* la care pe lîngă cromozomii grîului s-a adăugat cîte o pereche din cele 7 perechi existente la secară. După aceea cei 21 monosomi (2 $n$ = 41) de la soiul de grîu Harkov (♀) au fost încrucișați cu cele 7 linii (♂) de adiție (2 $n$ = 42 + 2), obținîndu-se în descendență 25% indivizi trisomici și 75% disomici cu 41 cromozomi de la grîu și unul de la secară. Prin autofecundarea acestor disomici se obțin teoretic *147 linii de substituție (40 + 2).* Numărul de 147 linii se realizează prin încrucișarea a 21 monosomici cu 7 linii de adiție. În acest fel s-a reușit înlocuirea unei perechi de cromozomi la grîu cu o pereche de la secară, conform schemei următoare :

Scanned with OKEN Scanner




Cercetări privind adiţia şi substituţia unor cromozomi de la o altă specie au fost efectuate de mai mulţi geneticieni. Astfel, încă în 1938 G. Kattermann a reuşit să obţină un hibrid grîu x secară, ce avea 40 cromozomi de grîu şi 2 cromozomi de secară. E. R. Sears (1953) a realizat un amfiploid cu 2 $n$ = 42 din încrucişarea *Triticum dicoccoides* (2 $n$ = 28) x *Haynaldia villosa* (2 $n$ = 14). După aceea amfiploidul a fost folosit pentru încrucişarea cu *T. aestivum* (2 $n$ = 42) în vederea obţinerii unor forme de grîu care să aibă un genom de la *H. villosa*.

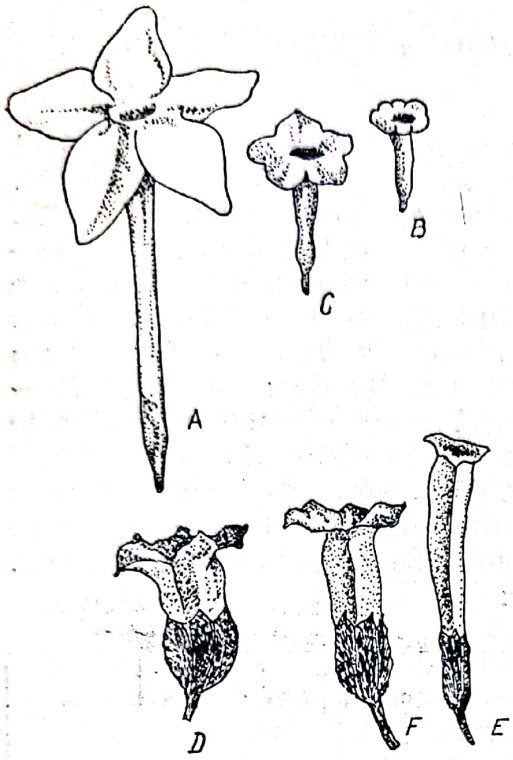



Fig. 108. Flori de *Nicotiana grandiflora* (A), *N. langsdorfii* (B) și ale hibridului dintre cele două specii. Flori de *N. rustica* (D), *N. paniculata* (E) și ale hibridului dintre cele două specii (F) (după Guyénot, 1942).

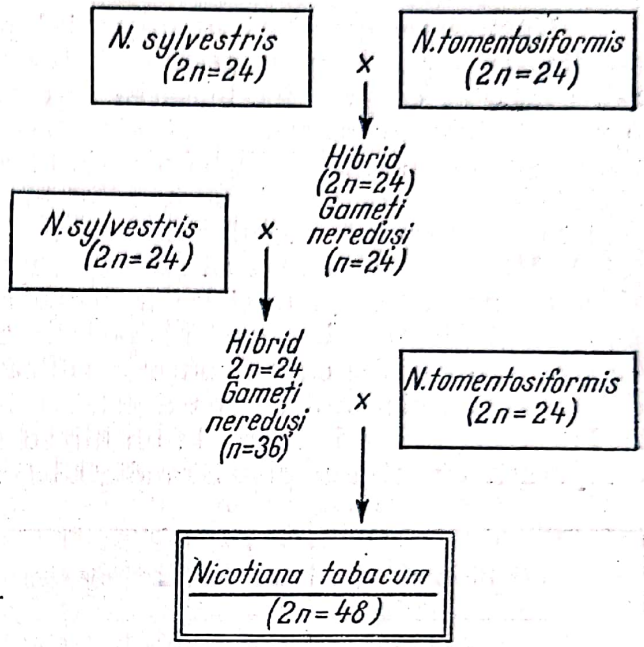



Fig. 109. Schema formării speciei amfiploide *Nicotiana tabacum*.

La tutun F. O. Holmes (1938) a făcut retroîncrucișări repetate între *Nicotiana digluta* (2 $n$ = 72) și *N. tabacum* (2 $n$ = 48), reușind astfel să transfere rezistența la virusul mozaicului tutunului de la amfiploid la tutun. După cum se știe, *N. digluta* este un amfiploid provenit din hibridarea *N. tabacum* (2 $n$ = 48) x *N. glutinosa* (2 $n$ = 24), în care specia *N. glutinosa* este rezistentă la virusul respectiv.

Transferul rezistenței la virusul mozaicului tutunului de la *N. glutinosa* la *N. tabacum* s-a realizat și de către *D. U. Gerstel* (1945), pe o altă cale. Acesta a făcut încrucișări *N. tabacum* x *N. glutinosa* și hibrizii din $F_1$ au fost retroîncrucișați repetat cu *N. tabacum*. În descendență a fost izolată o plantă de tutun la care fusese transferată prin adiție rezistența la virus de la *N. glutinosa*.

Cercetările privind adiția și substituția de cromozomi au nu numai importanță teoretică legată de problema substratului material al eredității, ci și importanță practică în domeniul ameliorării plantelor.

## IMPLICAȚIILE PRACTICE ALE HIBRIDĂRII INTERSPECIFICE

Numeroase cercetări în domeniul producerii unor amfiploizi și al ameliorării lor în scopuri practice a făcut A. Müntzing în Suedia. S-a constatat că prin încrucișarea între *Triticum aestivum* (2 $n$ = 42), o plantă tipic autogamă, cu *Secale cereale* (2 $n$ = 14), plantă tipic alogamă, se obține amfiploidul *Triticale* (2 $n$ = 56), care este autogam. Din această cauză genomul de secară din amfiploid este supus homozigoției, fapt care determină anumite defecte ale plantei de Triticale. Cercetările lui A. Müntzing au arătat că rezultate mult mai bune se obțin prin folosirea la încrucișare a unei secare consangvinizate. Plantele de Triticale au o bună adaptare la soluri nisipoase, au paiul rezistent la cădere, la fel ca secara, au boabe cu un conținut ridicat de proteine de bună calitate și dau o recoltă similară cu cea a grîului. Iată cîteva rezultate obținute de A. Müntzing privind recolta la un hibrid între două varietăți de *Triticale*, comparativ cu soiul de grîu Skandia III B :

| Recolta în g. | 150 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 450 | 500 | 600 | 650 | $n$ | M |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (Triticale O x L Triticale) | 1 | 5 | 11 | 17 | 14 | 17 | 6 | — | — | — | 71 | 354,6 |
| Skandia III B | — | 1 | 4 | 4 | 3 | 2 | — | — | — | 1 | 15 | 348,3 |

Printre amfiploizii obținuți recent, cu importanță practică pot fi citați : hibridul între *Lolium perenne* și *Festuca pratensis*, hibridul între măr și păr, hibridul între specia tetraploidă *Trifolium repens* (2 $n$ = 64) și cea diploidă *T. nigrescens* (2 $n$ = 32). În sfîrșit, deosebită însemnătate economică prezintă amfiploizii din genul *Brassica*, despre care am amintit anterior.

În Uniunea Sovietică, N. V. Țîțîn a efectuat încrucișări între specii aparținînd la genuri diferite : grîu (genul *Triticum*) x pir (genul *Agropyron*), grîu x secară (genul *Secale*), grîu x *Elymus*, secară x *Elymus*, orz x *Elymus*, secară x pir etc. Cele mai interesante rezultate au fost obținute din încrucișarea grîului (*Triticum aestivum*) cu diferite specii de pir : *A. repens, A. glaucum, A. elongatum, A. junceum, A. trichophorum*. etc. Hibrizii din prima generație sînt considerați de N. V. Țîțîn ca specii noi, însă provizorii, deoarece datorită sterilității lor nu pot fi înmulțiți. Pentru învingerea sterilității primei generații ($F_1$ el a folosit încrucișarea repetată cu unul dintre genitori. Dacă hibrizii grîu-pir din $F_1$ sînt polenizați cu polen de grîu, atunci procesul de creare a formelor se dezvoltă în direcția grîului, iar dacă hibrizii din $F_1$ sînt polenizați cu polen de pir, atunci plantele se dezvoltă în direcția pirului, fiind perene

și avînd boabe cu caractere intermediare între grîu și pir. În generațiile următoare, la hibrizi se restabilește treptat fertilitatea. Începînd cu generația a doua ($F_2$) are loc un proces larg de apariție de combinații noi, iar din generația a treia ($F_3$) apar specii noi constante, precum și speciile de la care au provenit hibrizii.

Pe lîngă soiuri tipice de grîu, obținute prin hibridare interspecifică, N. V. Țîțîn a selecționat forme intermediare între grîu și pir, cum este, de pildă, *Triticum agropyrotriticum perenae*. Acest grîu dă recoltă timp de 2—3 ani consecutiv, fără a fi reînsămînțat, este o plantă alogamă rezistentă la boli și la cădere, avînd circa 25% substanțe proteice în bob, deci incomparabil mai mult ca grîul, care are aproximativ 14%. Datorită unei capacități mari de lăstărire, grîul peren poate fi folosit după recoltare pentru boabe ca plantă furajeră.

A. R. Jebrak (1957) a executat încrucișări între diferite specii de grîu (*T. aestivum, T. durum, T. turgidum, T. timopheevi, T. polonicum, T. orientale, T. persicum, T. monococcum* etc.), precum și între diferite specii de grîu și secară (*Secale cereale*). Pentru învingerea sterilității hibrizilor a fost folosită metoda tratării semințelor hibride ($F_0$) cu o soluție de colchicină de 0,1%, timp de 24 de ore. Au fost astfel obținuți numeroși amfidiploizi, la care $2n = 56$, cum sînt: *T. durum* x x *T. Timopheevi*, *T. turgidum* x *T. Timopheevi*, *T. persicum* x *T. Timopheevi* etc. și alții la care $2n = 70$, cum sînt: *T. Timopheevi* x *T. aestivum*, *T. durum* x *T. aestivum*. S-a reușit astfel să se mărească seria poliploidă a grîului care nu conține decît cel mult forme hexaploide ($2n = 42$), cu forme octoploide ($2n = 56$) și decaploide ($2n = 70$). A. R. Jebrak a reușit, de asemenea, să obțină hibrizi între trei specii de grîu: (*T. durum* x *T. Timopheevi*) x *T. aestivum* și (*T. turgidum* x *T. Timopheevi*) x x *T. aestivum*. Din acest material hibrid au fost selecționate unele linii valoroase, care au o productivitate superioară soiurilor standard.

La noi în țară, hibridări interspecifice la plante au fost efectuate de A. Priadcenco și L. Moisescu (1964), P. Raicu (1965) la cereale, Gh. Popescu, M. Oșlobeanu și I. Poenaru (1955) la vița de vie, V. Cociu (1954) la pomii fructiferi etc. Numeroși hibrizi interspecifici s-au obținut între specii de plante forestiere, hibrizi ce manifestă un puternic heterozis și prezintă de aceea importanță economică.

Ca și la plante, hibridarea interspecifică la animale se realizează uneori destul de greu datorită, pe de o parte, rezistenței la încrucișare, iar, pe de altă parte, din cauza sterilității hibrizilor. În primul rînd, încrucișarea îndepărtată este îngreuiată de obstacole de ordin morfologic: dimensiunile celulelor sexuale sînt necorespunzătoare pentru ca fecundația să aibă loc. În al doilea rînd, uneori lipsește atracția fiziologică dintre gameți, încît fecundarea nu se realizează. Alteori, deși fecundarea are loc, zigotul nu reușește să se dezvolte normal. De pildă, cercetările lui H. N. Newmann (1915) au arătat că la hibrizii între două specii de pește (*Apeltes quadracus* x *Menidia beryllina*) se dezvoltă normal

regiunea cefalică şi cea codală, însă regiunea trunchiului nu se dezvoltă, astfel că regiunea capului şi a cozii rămîn separate printr-o masă nediferenţiată. În mod asemănător, la încrucişarea între ovine şi caprine nu se obţin hibrizi din cauză că nu are loc fecundarea, iar dacă fecundarea se realizează, embrionii se resorb în cursul gestaţiei, iar femelele avortează.

O altă piedică în calea încrucişării interspecifice a animalelor o constituie faptul că animalele hibride pier de tinere sau sînt sterile şi de aceea nu se mai pot înmulţi.

De exemplu s-a constatat că încrucişarea între vaca domestică *(Bos taurus)* şi bizonul american *(Bos bison)* este posibilă, însă masculii hibrizi sînt anormali şi mor de tineri. În privinţa sterilităţii s-a constatat că aceasta afectează ambele sexe sau numai un sex. La catîr *(Equus caballus* ♀ x *E. asinus* ♂), masculii sînt sterili, iar femelele sînt în majoritate sterile. Hibrizii dintre raţa comună *(Anas platyrhyncha)* şi raţa leşească *(Cairinia moschata)* sînt complet sterili, iar la hibrizii dintre vacile domestice şi bizonul american, masculii pier de tineri, iar femelele sînt normale şi fecunde. Prin împerecherea acestor femele cu masculi de *Bos taurus* se obţin hibrizi cunoscuţi sub numele de *catalloos.*

Deşi hibridarea interspecifică este afectată în general de mari greutăţi, totuşi uneori se pot obţine relativ uşor hibrizi care au chiar valoare economică. În continuare vor fi prezentate cele mai cunoscute experienţe de hibridare interspecifică la animalele domestice şi importanţa din punct de vedere economic a hibrizilor.

Cercetările de hibridare interspecifică la păsări au arătat că la acestea se pot obţine relativ uşor hibrizi, nu numai între specii, dar chiar între genuri diferite, deşi în majoritatea cazurilor hibrizii sînt sterili. Astfel s-au obţinut hibrizi între raţa comună cenuşie *(Anas boschas)* x raţa alergătoare albă *(Anas moschas),* între raţa comună *(Anas platyrhyncha)* x raţa leşească *(Cairinia moschata),* între gîsca carunculată (genul *Cygnopsis)* x gîsca comună (genul *Anser),* între găină *(Gallus domesticus)* x fazan *(Phasianus colchicus),* între găină *(Gallus domesticus)* x bibilică *(Numida meleagris),* între păun *(Pavo cristatus)* x bibilică *(Numida meleagris)* etc.

În genul *Sus* s-au obţinut hibrizi între porcul mistreţ european *(S. scrofa ferrus)* şi porcul domestic *(S. domesticus),* precum şi între porcii sălbatici asiatici *(S. vitattus, S. cristatus* etc.) şi porcul domestic. Toţi hibrizii între porcul mistreţ şi porcul domestic sînt fecunzi, ei nu prezintă valoare economică, putînd fi folosiţi numai în procesul de ameliorare.

Hibrizii din genul *Equus* sînt cunoscuţi încă din antichitate. O importanţă economică mai mare prezintă *catîrul (E. mullus)* hibrid obţinut prin împerecherea unui asin *(E. asinus)* cu o iapă *(E. caballus).* Hibrizii dintre cal *(E. caballus)* şi zebră *(E. zebra)* se numesc *zebroizi* şi se folosesc ca animale de muncă în ţările calde. Zebroizii sînt animale puternice, rezistente la condiţiile nefavorabile de mediu, din care cauză sînt apreciaţi pentru muncă, mai ales în regiunile cu climă foarte caldă şi

Scanned with OKEN Scanner

uscată. În sfîrşit s-au mai obţinut hibrizi între calul domestic *(E. caballus,* 2 *n* = 64) şi calul sălbatic *(E. prjevalski,* 2 *n* = 66), care au 2 *n* = 65 şi sînt complet fertili.

În genul *Ovis* s-au făcut hibridări între oaia domestică şi diferite specii sălbatice, reuşindu-se crearea pe această cale a unor rase noi. Astfel, M. F. Ivanov (1936) a încrucişat oi din rasa merinos Rambouillet *(Ovis aries)* cu berbeci de muflon *(Ovis mussimon).* Muflonul este o specie de ovine care trăieşte în stare sălbatică în regiunile muntoase din jurul Mării Mediterane. Aceste ovine sînt bine adaptate la viaţa din regiunile muntoase, însă lîna lor este aspră şi scurtă, încît nu poate fi folosită în fabricarea stofelor fine. Hibrizii din încrucişarea oii domestice cu muflonul au fost din nou împerecheaţi cu oaia domestică, pentru ca influenţa muflonului să nu fie prea puternică. Printr-o selecţie judicioasă a celor mai buni hibrizi, M. F. Ivanov a reuşit să creeze rasa Merinos de munte, cu lînă fină şi rezistenţă la condiţiile aspre din regiunile montane.

În genul *Capra* s-a reuşit obţinerea de hibrizi între capra domestică *(Capra hircus)* şi capra sălbatică a lui Severţov *(C. Sewertzowi).*

În genul *Bos* s-au realizat încrucişări între specii diferite, aparţinînd aceluiaşi subgen sau chiar la subgenuri diferite.

În genul *Bos* sînt patru subgenuri cu mai multe specii :

*1)* subgenul *Bos* cuprinde speciile *B. taurus,* vaca domestică şi *B. zebu* (zebu) ;

2) subgenul *Bibos* cuprinde speciile *B. sondaicus* (bantengul), *B. frontalis* (gayalul) şi *B. gaurus* (gaurul) ;

*3)* subgenul *Bison* cuprinde speciile *B. bonassus* (zimbrul) şi *B. bison* (bizonul american) ;

*4)* subgenul *Poephagus* cuprinde specia *B. poephagus grunniensis* (iacul).

Încrucişarea între vaca domestică *(Bos taurus)* şi zebu *(B. zebu)* are loc cu uşurinţă atît în condiţii naturale, în regiunile în care aceste specii cresc împreună, cît şi în condiţii artificiale. Zebu sau boul cu cocoaşă este un animal care se creşte în stare domestică în Africa de nord, în India, în Uniunea Sovietică etc. Această specie este folosită pentru muncă, carne şi lapte. Producţia de lapte este scăzută, însă laptele are un procent ridicat de grăsime. Prin încrucişarea taurinelor cu zebu se obţin hibrizi fecunzi, aşa-numitele *vite zebiforme,* care prezintă caractere intermediare. Scopul urmărit prin această încrucişare este de a crea animale cu o producţie sporită de lapte, cu un procent ridicat de grăsime în lapte şi, ceea ce este foarte important, bine adaptate la condiţiile climei calde şi rezistente la boala piroplasmoză, ce provoacă mari pagube în efectivele de taurine. Primele cercetări sistematice de încrucişare între taurine şi zebu au fost iniţiate de M. F. Ivanov (1936) la Askania Nova, în Uniunea Sovietică, încă acum cîteva decenii. Prin încrucişarea vacilor de rasă Roşie de stepă cu masculi de zebu s-au

Scanned with OKEN Scanner

obținut animale hibride, care dau producții mari de lapte, cu un procent ridicat de grăsime.

Hibridarea taurinelor *(Bos taurus)* cu iacul *(Bos poephagus grunniensis)* are importanță practică pentru regiunile muntoase ale Asiei Centrale. Hibrizii dintre aceste specii, aparținînd la subgenuri diferite, se obțin ușor, însă masculii sînt sterili, iar femelele fecunde. Iacul este un animal care trăiește în stare domestică în R. P. Mongolă, R. P. Chineză, India, Afganistan, Uniunea Sovietică, avînd talie mare, o bună rezistență la condițiile aspre din regiunile montane înalte și fiind folosit pentru carnea, laptele și părul său de calitate superioară, precum și ca animal de muncă. Producția de lapte este de cîteva sute de kilograme într-o perioadă de lactație, fiind deci foarte scăzută, însă cantitatea de grăsime în lapte este foarte mare, circa 7%.

În America se practică încrucișarea îndepărtată între taurine *(B. taurus)* și bizon *(B. bison)*. Hibrizii masculi sînt sterili, iar femelele sînt fecunde. Prin împerecherea femelelor hibride din $F_1$ cu masculi de *B. taurus* se obțin hibrizi cunoscuți sub numele de *catalloos*, care sînt animale rezistente, cu o creștere mai rapidă ca a genitorilor și cu o mare putere de muncă.

Importanță practică mai prezintă hibrizii dintre vaca domestică *(B. taurus)* și zimbru *(B. bonassus)*. La acești hibrizi fenomenul heterozis se manifestă prin aceea că animalele cresc repede și depășesc genitorii, ei fiind folosiți pentru carne și pielea de bună calitate. Ca și la împerecherea cu bizonul, hibrizii masculi sînt sterili, iar femelele fecunde.

În sfîrșit, hibridări îndepărtate s-au efectuat și între diferite alte specii de animale domestice, cum sînt, de pildă, cele dintre cămila cu o cocoașă *(Camelus dromaderius)* și cămila cu două cocoașe *(C. bactrianus)*, precum și între specii de pești de cultură. În ultima vreme, o mare atenție s-a acordat încrucișărilor între diferite specii de pești de cultură, deoarece s-a constatat că la acest grup de animale fenomenul heterozis este foarte puternic.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL X

# MUTAȚII

## NOȚIUNI GENERALE PRIVIND MUTAȚIILE

*Mutațiile* pot fi definite ca modificări ale patrimoniului genetic, adică ale genotipului, care nu se datoresc recombinării genelor. Cauza apariției mutațiilor o constituie factorii mutageni din mediul natural sau artificial, cum sînt : radiațiile ionizante și neionizante, substanțele chimice mutagene, șocurile de temperatură etc. Prin mutații pot fi afectați cromozomii sau numai structura biochimică a genelor. Modificările genotipului pot fi clasificate în general astfel :

1. *Autopoliploidia,* care înseamnă modificarea numărului de genomuri proprii.

2. *Amfiploidia,* care constă în adiția de genomuri de la o altă specie prin hibridare.

3. *Aneuploidia,* care înseamnă adiția sau deleția unuia sau mai multor cromozomi (nulisomie, monosomie, trisomie, tetrasomie etc.).

4. *Mutații cromozomiale,* care constau în schimbarea structurii cromozomilor (deleția, duplicația, inversia, translocația etc.).

5. *Mutații genice,* care înseamnă modificări calitative ale genelor și care nu sînt corelate cu schimbări structurale ale cromozomilor.

Deoarece problemele privind autopoliploidia, amfiploidia și aneuploidia sînt tratate în alte capitole, în acest capitol ne vom ocupa exclusiv de mutațiile cromozomiale și cele genice. După modul cum apar, mutațiile mai pot fi clasificate în :

1. *mutații naturale,* care apar sub influența unor factori mutageni din natură ;

2. *mutații artificiale,* care sînt induse experimental cu ajutorul a diverși factori mutageni.

Scanned with OKEN Scanner

## MUTAŢII NATURALE

Sub influenţa unor factori mutageni naturali de multă vreme a fost semnalată apariţia de mutante la diferite specii. La plante au fost descrise numeroase cazuri de mutaţii apărute spontan, la cele mai diverse grupuri sistematice. Încă în secolul al XVI-lea, farmacistul Sprenger din Heidelberg a observat la *Cheliodonium majus* apariţia unei plante cu frunzele şi petalele de o formă anormală, caracter ce s-a transmis la descendenţi, astfel că noua formă a primit denumirea de *Cheliodonium laciniatum*.

În anul 1763, horticultorul Duchesne a găsit într-o cultură de fragi o plantă care avea frunzele simple, în loc să le aibă compuse din 3 foliole. Această plantă se afla la originea *fragului monofil*, care se găseşte şi în prezent în grădinile botanice. O mutaţie asemănătoare a fost găsită la *Robinia pseudoacacia* în anul 1855 şi ea a dat naştere salcîmului monofil.

O dată cu dezvoltarea culturii plantelor şi creşterii animalelor în secolul al XVIII-lea, dar mai ales în secolul al XIX-lea, sînt observate şi descrise nenumărate mutaţii apărute spontan. Ch. Darwin a strîns tot ce era cunoscut pe vremea sa în domeniul acestor variaţii bruşte ale eredităţii şi a observat el însuşi numeroase cazuri de asemenea variaţii la diverse plante şi animale. În *Originea speciilor* (1859), dar mai ales în *Variaţia animalelor şi plantelor în stare domestică* (1868), el prezintă aceste variaţii ereditare sub denumirea de „sports". El citează în acest sens cazul oilor *merinos*, cu lînă mătăsoasă, care se trag dintr-un singur individ, apărut brusc în 1828, cazul rasei de vaci *Niata* din America de Sud, cazul păunilor cu penajul negru pe umeri, apăruţi de cinci ori în diverse localităţi din Anglia şi care au format o specie nouă *Pavo nigripennis* etc. De asemenea, el acordă mare atenţie modificărilor ereditare care afectează numai anumite organe ale plantelor, pe care le denumeşte *variaţiuni mugurale* şi cărora le consacră un capitol întreg în lucrarea sa *Variaţia animalelor şi plantelor în stare domestică*. El citează exemplul piersicului la care a apărut o ramură cu fructe nepubescente, prunului cu fructe roşii care în mod brusc a început să formeze pe o ramură fructe de culoare gălbuie etc. Ch. Darwin consideră că variaţiile ereditare bruşte care apar la plante şi animale în mod natural sînt la originea multor soiuri şi rase create de om.

Deşi în a doua jumătate a secolului al XIX-lea au fost observate numeroase mutaţii la plante, totuşi, cel care a atras atenţia asupra acestui fenomen a fost Hugo de Vries, care a publicat în anul 1901 lucrarea sa *Die Mutationstheorie* şi a introdus în ştiinţă noţiunea de „mutaţie". Observaţiile sale au fost efectuate asupra plantei *Oenothera lamarckiana*, la care a remarcat apariţia unui număr considerabil de mutante, pe care le-a ridicat la rangul de specii bune.

Scanned with OKEN Scanner

Pe baza observaţiilor sale la *Oenothera lamarckiana,* H. de Vries a elaborat *teoria mutaţionistă,* cu ajutorul căreia el explică evoluţia plantelor. Cercetările de genetică moderne au dovedit caracterul unilateral al acestei teorii, precum şi faptul că multe din mutaţiile apărute în cultura de *Oenothera lamarckiana* nu sînt de fapt mutaţii, ci recombinări genetice care apar în urma hibridării, materialul iniţial fiind la origine un hibrid complex.

La animale sînt citate încă de multă vreme cazuri de apariţie spontană a mutaţiilor, din care unele au servit ca material iniţial pentru crearea de rase noi. Printre primele mutante observate la nevertebrate sînt cele citate de W. L. Tower (1906) la *Leptinotarsa decemlineata,* coleopter ce parazitează plantele de cartof. La un număr total de 207 891 de indivizi studiaţi, el a găsit 118 mutante, cărora le-a dat diferite denumiri, în funcţie de caracterele afectate : *melanicum, albida, tortuosa, minuta, immaculothorax, pallida, rubrivitata, defectopunctata, obscurata* etc. Diferite mutante au fost observate la crustaceul *Daphnia longispinna,* de către A. Banta şi T. Wood (1927). Mutantele apărute la *Daphnia longispinna* au servit pentru crearea unei linii termofile, deoarece aveau temperatura optimă de dezvoltare (25—28° C), mult mai ridicată ca la indivizii normali (19—20° C). În sfîrşit, la nevertebrate au fost descrise peste 500 mutante la *Drosophila melanogaster,* de către T. Morgan şi şcoala lui.

Mutante numeroase au fost observate la diferite specii de vertebrate, în special la animalele domestice, pe care omul a avut mai mult posibilitatea să le analizeze. Astfel, rasa de oi *merinos mătăsos* a fost creată dintr-o mutantă ce prezenta acest caracter şi care a apărut într-o turmă de merinos obişnuit în anul 1828, într-o fermă din Monchamp.

La vulpea argintie a apărut în anul 1933 într-o crescătorie o mutantă platinată, cu blana de culoare gri foarte deschis. Această mutantă a stat la baza creării rasei de *vulpi argintii platinate,* de mare valoare economică. Mutaţii valoroase au fost observate şi la alte animale crescute pentru blană, cum este, de pildă, vizonul *(Mustela vison).* Încă în 1941, S. E. Smith, C. H. Whitaker, L. F. Davids şi P. V. Noble au semnalat apariţia a trei mutante la vizonul dintr-o crescătorie, şi anume : *platinată, blondă* şi *argintie,* din care au fost create rase noi. Mai tîrziu, W. E. Castle şi L. Moore (1946) au semnalat apariţia a încă şapte mutante privind culoarea blănii : *albinism* (blana albă şi ochii roşii), *bleu-argintiu* (blana argintie, cu nuanţe albăstrui), *bleu-bronzat* (blana de culoare ceva mai închisă ca tipul precedent), *Koh-i-nur* (blana aproape albă, cu excepţia capului şi unei benzi longitudinale medodorsală), *alb dominant* (blana albă şi ochii negri), *Baldy* (blana gri de ardezie şi capul alb), *Blackout* (blana neagră argintată).

La bovine, ovine şi caprine sînt cunoscute o seamă de *rase fără coarne,* care provin din diferite mutante apărute pe cale naturală. De pildă, în 1770 a fost semnalată în Paraguay apariţia unui taur fără

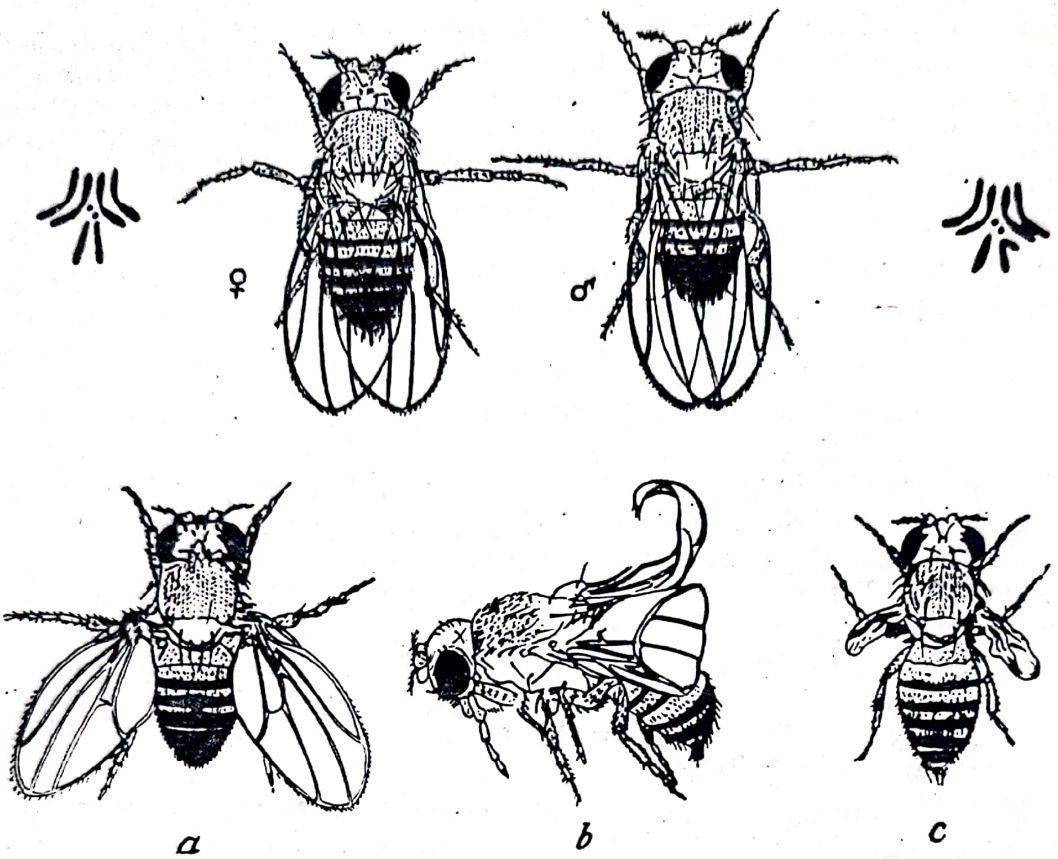



Fig. 110. Tipul normal de *Drosophila melanogaster* (sus) și cîteva mutante (jos) : dichaete (a), curved (b) și vestigial (c).

coarne, ai cărui descendenți erau, de asemenea, lipsiți de coarne. Aceeași mutație a reapărut în 1889 în Kansas și ea a dat naștere binecunoscutei rase de vaci de lapte *Hereford*. De asemenea, există rase de oi și capre care prezintă patru coarne și care provin din mutații naturale. Astfel de rase de oi sînt cunoscute mai ales în Cipru, Islanda și Kașmir. La suine a fost semnalată existența unor *animale monodactile*, provenite dintr-o mutație naturală. În țara noastră, porcul monodactil a fost semnalat și studiat recent de V. Gheție și M. Dinu (1957).

La păsările domestice au fost semnalate o seamă de mutații naturale, care au dus în unele cazuri la crearea de rase noi. Astfel se consideră că majoritatea raselor actuale de porumbei provin din mutații naturale. De pildă, *rasa de porumbei jucători* descinde dintr-un individ apărut spontan într-o crescătorie în anul 1850.

*Rasele de găini cu gîtul gol, cele polidactile, cele cu pene mătăsoase* provin în mod sigur din mutații naturale. De pildă, rasa Silki, cu pene mătăsoase, are o origine foarte veche, fiind descrisă încă din anul 1600 de către Aldrovandi. O mutantă similară a apărut în secolul al XX-lea la rasa Leghorn și a fost descrisă de S. V. H. Jones (1921).

La peşti au fost semnalate numeroase mutaţii, mai ales la speciile crescute în heleşteie şi la cele ornamentale. Rasele de caras auriu *(Carassius auratus)*, folosite în scop ornamental, care prezintă o mare variaţie de culori, de formă etc., au fost create de crescători chinezi prin selecţia unor mutaţii naturale. La peştele vivipar *Platypoecilus maculatus*, originar din Mexic, crescătorii amatori au izolat numeroase mutante, referitoare mai ales la pigmentaţie şi desenul de pe corp. M. Gordon şi A. C. Fraser (1931) au descris la această specie numeroase varietăţi crescute în acvarii şi care provin din mutaţii naturale. Fenomenul apariţiei spontane a bacteriilor penicilino-rezistente a atras atenţia bacteriologilor şi geneticienilor cu atît mai mult cu cît el aducea şi aduce încă prejudicii importante în terapeutica unui număr important de boli infecţioase. Consacrîndu-şi numeroase cercetări studiului acestui fenomen, V. Braun (1953) arată că procesul de apariţie al penicilino-rezistenţei se efectuează în trepte, rezistenţa la concentraţii crescute de penicilină, necesitînd mai înainte mutaţii de acest gen la concentraţii mici. Dacă se inoculează o populaţie bacteriană sensibilă la penicilină, pe un mediu de cultură care conţine o cantitate mare de penicilină, mutantele nu apar. În schimb, pe medii de cultură cu concentraţii joase de penicilină se pot detecta numeroase mutante rezistente la concentraţii ceva mai mari. Prin selecţionarea acestor mutante şi cultivarea lor pe medii cu o concentraţie din ce în ce mai mare de antibiotic se pot obţine *mutante rezistente la concentraţii mari de antibiotice*. Prin astfel de selecţii succesive s-au obţinut şi mutante rezistente la cloramfenicol şi chiar mutante rezistente la mai multe antibiotice (mutante rezistente concomitent la streptomicină, cloramfenicol, tetraciclină şi sulfamidă).

Proporţia apariţiei spontane a mutantelor rezistente la antibiotice variază mult cu specia bacteriei. În tabelul de mai jos sînt inserate cîteva date de acest fel la unele specii bacteriene :

| Specia | Tipul de mutaţie | Frecvenţa mutaţiilor |
|---|---|---|
| *Escherichia coli* | Streptomicino-rezistenţă | $1 \times 10^{-10}$ |
| *Shigella* | Streptomicino-rezistenţă | $3 \times 10^{-10}$ |
| *Salmonella typhi* | Streptomicino-rezistenţă | $1 \times 10^{-10}$ |
| *Staphilococcus aureus* | Penicilino-rezistenţă | $1 \times 10^{-7}$ |

*Mutaţiile naturale pot fi definite ca schimbări bruşte a eredităţii organismelor sub influenţa unor cauze necunoscute sau cunoscute parţial.* Frecvenţa cu care apar mutaţiile naturale este mică şi ea variază

atît în funcţie de specie cît şi de caracterul afectat, după cum reiese din datele de mai jos (R. P. Levine, 1962) :

| Speciile | Tipul de mutaţie | Nr. de gameţi testaţi | Mutaţii la $10^6$ gameţi |
|---|---|---|---|
| *Drosophila melanogaster* | y (yelow) | 70 000 | 29 |
| | w (white) | 70 000 | 29 |
| | ct (cut) | 60 000 | 150 |
| *Zea mays* | wx (waxy) | 1 503 744 | 0 |
| | sh (shrunken) | 2 469 285 | 1,2 |
| | su (sugary) | 1 678 731 | 2,4 |
| *Homo sapiens* | distrofie musculară | — | 8 |
| | condrodistrofie | — | 10—140 |
| | hemofilie | — | 20—30,2 |
| *Escherichia coli* * | leu (leucină) | — | 0,07 |
| | try (triptofan) | — | 5,61 |

* Mutaţii la $10^9$ bacterii.

Una dintre cauzele mutaţiilor naturale este considerată *radiaţia cosmică*. Acest tip de radiaţie naturală care scaldă permanent Pămîntul nostru, este formată din nuclei de carbon, azot şi oxigen. Unele dintre aceste particule se ciocnesc cu nuclei ai unor atomi din aer şi dau naştere la *radiaţia cosmică secundară*, care este formată din radiaţii electromagnetice şi corpusculare şi care acţionează permanent asupra pămîntului.

Studiul mutaţiilor naturale a dus la constatarea că frecvenţa acestora depinde nu numai de prezenţa unor factori ai mediului, în parte încă necunoscuţi, ci şi de factori interni. Astfel s-a constatat că *frecvenţa mutaţiilor variază în funcţie de ereditatea* soiurilor sau formelor respective. De pildă, H. K. Hayes şi H. E. Brewbacker (1924) au constatat că la *Zea mays* L. mutaţia care duce la absenţa clorofilei a

apărut la 80 de linii din 203 (39,3%) la soiul Minnesotta, la 6 linii din 55 (11%) la soiul Longfellow şi la 7% din liniile soiului N. W. Dent.

*Frecvenţa mutaţiilor naturale se măreşte, de asemenea, o dată cu îmbătrînirea celulelor.* H. Stubbe (1935) a constatat acest fenomen la seminţele de *Antirrhinum majus* păstrate timp de 5—10 ani.

| Vîrsta seminţelor | % de mutaţii |
|---|---|
| 5 ani | 1,50 |
| 6 ani | 2,96 |
| 7 ani | 5,25 |
| 8 ani | 4,06 |
| 9 ani | 6,05 |
| 10 ani | 14,04 |

Fenomenul a fost observat şi la celulele sexuale de *A. majus* de către H. Stubbe (1936), care a păstrat într-un exicator în prezenţa clorurei de calciu, la temperatura camerei, antere cu polen şi apoi a efectuat polenizarea plantelor.

| Vîrsta polenului | % de mutaţii |
|---|---|
| 1 săptămînă | 0,96 |
| 5 săptămîni | 4,18 |
| 9 săptămîni | 6,12 |
| 11 săptămîni | 8,63 |

Dependenţa frecvenţei mutaţiilor de vîrsta celulelor se poate uşor explica pornind de la premisa că acţiunea factorilor mutageni se exercită în tot cursul vieţii celulare, astfel că are loc un proces de acumulare a modificărilor metabolice în celulele mai bătrîne, care duce în cele din urmă la apariţia unui număr mai mare de mutaţii.

*Frecvenţa mutaţiilor depinde, de asemenea, de caracterul sau însuşirea organismelor,* deoarece s-a constatat, de pildă, că la plante unele caractere şi însuşiri au un conservatism mai accentuat, în timp ce altele se modifică mai uşor. De pildă, E. Baur (1930) a constatat că din 46 de mutaţii naturale la *Antirrhinum majus,* mutaţia de tip *crispa* a apărut de 39 de ori, mutaţia de tip *pallida* de 11 ori, mutaţiile *deficiens* şi *unicolor* de 3 ori, mutaţiile *chloripetala, cornuta, delila, graminifolia,*

Scanned with OKEN Scanner

*plena, radialis, rosea* de 2 ori, iar toate celelalte 35 de mutaţii nu au apărut decît o dată.

Cauza determinantă în apariţia de mutaţii naturale sînt factorii mutageni din mediu, ca : radiaţiile, diferite substanţe chimice din pămînt sau atmosferă, variaţiile bruşte de temperatură etc. De pildă, printre sursele de radiaţii naturale pot fi citate : razele cosmice, radioactivitatea pămîntului, datorită prezenţei unor elemente, ca : uraniul, toriul, heliul, samariul, rubidiul etc., gazul radon din atmosferă provenit din dezagregarea uraniului, unele elemente, cum sînt carbonul şi potasiul din corpul plantelor şi animalelor, care au izotopi radioactivi în stare naturală etc.

## MUTAŢII ARTIFICIALE ŞI FACTORI MUTAGENI

Studiul mutaţiilor naturale şi a cauzelor care determină apariţia lor a dus la ideea acţionării pe cale artificială cu anumiţi factori fizici, chimici şi biologici în vederea obţinerii de *mutaţii artificiale* cu o frecvenţă mult mai mare decît a celor naturale.

În primul rînd trebuie relevate cercetările care au pus în evidenţă influenţa radiaţiilor X şi gama asupra genotipului diferitelor specii. Printre primele cercetări în această direcţie au fost cele ale lui C. S. Gager (1905—1910), J. T. Mavor (1920—1929), H. J. Müller, L. J. Stadler, G. A. Nadson, L. N. Delone, A. A. Sapeghin, H. Nilsson-Ehle, H. Stubbe, A. Gustafsson, T. Morgan etc. Ulterior s-a descoperit o gamă largă de radiaţii ionizante şi neionizante cu efect mutagen. S-au pus astfel bazele unei noi ştiinţe, denumită *radiogenetică, ce studiază influenţa radiaţiilor asupra genotipului la plante, animale şi om.*

Mai tîrziu s-a descoperit că numeroase substanţe chimice au efect mutagen şi ca urmare pot fi folosite pentru inducerea de mutaţii. Printre geneticienii care au descoperit şi au adus contribuţii importante în domeniul studierii substanţelor chimice mutagene pot fi citaţi : Ch. Auerbach (1946), J. A. Rapaport (1946), H. Heslot, E. Freese etc. Astfel s-a pus în evidenţă că substanţe chimice, ca : aldehida formică, iperita, diferiţi agenţi alkilanţi, analogi ai bazelor azotate ce intră în alcătuirea acizilor nucleici, acidul nitros, diferiţi coloranţi etc., deşi au o constituţie chimică foarte variată, manifestă efect mutagen.

În sfîrşit trebuie relevate cercetările privind influenţa temperaturii şi respectiv a şocurilor termice asupra genotipului. Contribuţii importante în domeniul punerii în evidenţă a efectului mutagen al temperaturii au adus : W. L. Tower (1906), H. J. Müller şi E. Altenburg (1919), R. Goldschmidt (1929), N. W. Timofeef-Ressevsky, K. G. Zimmer, M. Delbruck (1935) etc.

Scanned with OKEN Scanner

Pe această bază, factorii mutageni pot fi grupaţi în trei categorii, şi anume :

1. Radiaţii ionizante şi neionizante.
2. Substanţe chimice mutagene.
3. Şocurile termice.

În ceea ce priveşte *mutaţiile cromozomiale,* ele afectează cromozomii, provocînd : *deleţii,* adică pierderea unui fragment de cromozom, *duplicaţii,* adică dublarea unei porţiuni de cromozom, *inversii,* adică schimbarea poziţiei unui fragment de cromozom, *translocaţii,* adică schimbul de fragmente între doi sau mai mulţi cromozomi etc.

*Mutaţiile genice* afectează genele care în general pot fi considerate unităţi ereditare structurale şi funcţionale, care nu pot fi divizate prin crossing-over şi care sînt totodată unităţi mutaţionale (prin mutaţie o genă este transformată într-o altă genă alelă plasată în acelaşi locus). Cercetări mai noi au dovedit că şi în interiorul genelor — considerate ca unităţi funcţionale sau *cistroni* — pot avea loc recombinări genetice la nivelul unor unităţi mai mici denumite reconi. În sfîrşit există unităţi mutaţionale mai mici, care se cheamă *mutoni.* Mutaţiile care afectează aceste ultime unităţi se cheamă *mutaţii punctiforme.*

Referitor la tipurile de mutaţii, s-a dovedit că ele sînt foarte variate. Astfel, după modul lor de apariţie, *mutaţiile pot fi dominante şi recesive.* Cînd mutaţia se produce la un organism haploid, cum sînt unii muşchi sau unele stadii din ciclul de viaţă al fungilor, această problemă nu se pune. De exemplu, la fungi, mutaţia unui bazidiospor, a unui ascospor sau a unui conidiospor poate fi recunoscută direct în funcţie de fenotipul pe care-l manifestă individul rezultat din dezvoltarea lui. Avantaje asemănătoare prezintă şi studierea mutaţiilor la bacterii şi virusuri. Nu este deci surprinzător faptul că cercetările de inducere a mutaţiilor experimentale s-au dezvoltat în mod considerabil la aceste organisme.

Marea majoritate a fiinţelor vii care pot suferi mutaţii sînt însă diploide, fiecare celulă a corpului (cu excepţia gameţilor) cuprinzînd cîte o pereche de cromozomi din fiecare tip. Detectarea mutaţiilor produse la astfel de organisme depinde de caracterele genetice (dominanţă, recesivitate) şi de cromozomii afectaţi (heterocromozomi, autozomi). Ca atare există mai multe tipuri de mutaţii care se manifestă diferit.

*Mutaţiile dominante* sînt cele mai uşor de evidenţiat, indiferent dacă cromozomii afectaţi au fost cei sexuali sau nu. Orice gamet care poartă o mutaţie dominantă, prin fecundare, va da naştere unui descendent care va exterioriza imediat variaţia fenotipică corespunzătoare. De obicei mutaţia atinge numai unul din factorii ereditari. De exemplu dacă un organism care include factorii ereditari *a a* suferă o mutaţie, gena *a* se va transforma în *A*. Această modificare se transmite pe cale ereditară, caracterul *a* fiind transmis unui gamet, iar *A* altui gamet. Gametul care conţine pe *A*, unindu-se prin fecundare cu oricare din gameţii *a* va da

un descendent *A a* heterozigot, care, conform legilor lui Mendel, va manifesta fenotipul corespunzător caracterului dominant. Ca atare, mutaţia se va evidenţia încă din prima generaţie ($F_1$) printr-o schimbare de fenotip în sensul mutaţiei dominante.

Dar mutaţiile dominante sînt extrem de rare. Dificultatea detectării mutaţiilor decurge tocmai din faptul că majoritatea acestora sînt *recesive* şi ca atare ele nu se exprimă fenotipic, fiind purtate de organismele heterozigote mai multe generaţii.

*Mutaţiile recesive* sînt mai dificil de evidenţiat, deoarece în $F_1$ descendenţii nu manifestă caracterul respectiv, care va apărea numai în $F_2$ sau $F_3$. De pildă, dacă la un organism *A A*, o genă *A* se transformă prin mutaţie în gena recesivă *a*, atunci în $F_1$ descendenţii fiind *A a* vor prezenta exclusiv caracterul dominant. În $F_2$ însă prin încrucişarea organismelor heterozigote *A a* × *A a* din $F_1$ va apărea la 25% din descendenţi mutanta recesivă. În realitate lucrurile sînt mai complicate datorită locului de plasare a genei recesive : pe autozomi sau pe heterozomi. De aceea au fost elaborate metode speciale de depistare a mutaţiilor recesive.

*Mutaţii directe* (forward mutation) prin care gena normală a tipului sălbatic se transformă într-o alelă diferită, în timp ce prin *mutaţii inverse* sau *mutaţii de reversie* (back-mutation) această genă se retransformă în tipul iniţial.

Trebuie menţionat că în general mutaţiile directe şi cele inverse apar în mod paralel, numai că frecvenţa lor este diferită. De exemplu, cercetările lui N. W. Timofeev-Resovski *la Drosophila melanogaster* au arătat că printr-un proces de mutaţie directă culoarea normală roşie-deschis a ochilor (W) se modifică într-o culoare mai închisă ($W^e$), iar printr-un proces de mutaţie inversă reapare tipul normal :

$$W \underset{4{,}2 \cdot 10^{-5}}{\overset{1{,}3 \cdot 10^{-4}}{\rightleftarrows}} W^e$$

După cum se poate observa, frecvenţa mutaţiilor inverse este mai mică.

*Mutaţii letale şi semiletale* sînt acele mutaţii care afectează gene de importanţă vitală pentru organism, prin a căror modificare organismul nu poate supravieţui imediat sau după un anumit timp.

În sfîrşit mai pot fi citate şi alte tipuri de mutaţii : *reglatoare, supresoare, operatoare* etc. care afectează acţiunea diferitelor gene.

În ce priveşte terminologia şi modul de notare al mutaţiilor, în general se utilizează prima sau primele litere ale cuvîntului cu care este desemnată gena respectivă. De pildă, mutanta cu ochi albi de la *Drosophila melanogaster* se notează cu litera *w* (de la cuvîntul white = alb),

Scanned with OKEN Scanner

în timp ce tipul sălbatic este notat cu $w^+$, cu *W* sau numai cu semnul (+). Acest tip de notare se folosește atît pentru mutațiile dominante cît și pentru cele recesive. În cazul că se urmărește evidențierea faptului dacă gena este dominantă sau recesivă, atunci se folosesc litere mari pentru genele dominante și litere mici pentru cele recesive. De exemplu, mutanta dominantă ochi barat de la *Drosophila melanogaster* este notată *B*, în timp ce tipul sălbatic este notat cu *b*.

## METODE DE IDENTIFICARE A MUTAȚIILOR

La diferite categorii de organisme și în funcție de tipul mutației au fost elaborate metode speciale de identificare a lor. În mod special, metodele de detectare a mutațiilor se referă la cele recesive, care nu se manifestă fenotipic decît în generațiile următoare.

### IDENTIFICAREA MUTAȚIILOR RECESIVE LEGATE DE CROMOZOMII SEXULUI

Dacă mutațiile afectează cromozomii sexului (heterozomii), detectarea lor este destul de ușoară. După cum se știe, în garnitura diploidă de cromozomi a tuturor organismelor, în afară de cromozomii somatici (autozomi) există și cromozomi sexuali (heterozomi), ușor de recunoscut după formă și număr. Femela de *Drosophila*, de exemplu, posedă doi cromozomi sexuali identici, numiți cromozomi X (XX), în timp ce masculul are un cromozom X și unul Y (XY).

Să presupunem că se analizează tipul normal de *Drosophila* care aer ochii roșii — caracter dominant *(W)* și că în linia masculă s-a produs o mutație recesivă — ochi albi *(w)* pe care urmărim s-o evidențiem în descendență. Prin fecundarea ovulelor de la femele normale cu spermatozoizi aparținînd unor masculi care poartă mutația se obține prima generație. Descendenții femeli vor primi un cromozom sexual de la femela X *(W)* și unul de la mascul X *(w)*, iar cei masculi vor primi un cromozom X *(W)* de la femelă și unul Y de la genitorul mascul. Toți acești descendenți, indiferent de sex, vor prezenta fenotipul ochi roșii, deoarece ei sînt heterozigoți și ochiul roșu este caracterul dominant. Fiicele vor forma în continuare ovule X *(W)* și ovule X *(w)*. Dacă o ovulă X *(w)* este fecundată de un spermatozoid X *(W)* vor apărea în generația următoare ($F_2$) fiice heterozigote cu fenotip ochi roșu X *(W)* X *(w)*. Dacă dimpo-

trivă, ovulele X *(w)* sînt fecundate de un spermatozoid Y, vor lua naştere descendenţii masculi X *(w)* Y care vor exterioriza fenotipic ochi albi.

Aşadar, mutaţia va deveni aparentă la jumătate din masculii obţinuţi în a doua generaţie, cealaltă jumătate avînd ochii roşii prin prezenţa cromozomului X *(W)* care poartă caracterul dominant de la femelă.

Existenţa mutaţiilor recesive sau letale legate de sex este extrem de importantă, deoarece ea permite evidenţierea rapidă şi sigură a mutaţiilor. Acest fenomen explică şi faptul că la *Drosophila melanogaster* în special un număr mare de mutaţii legate de sex au fost recunoscute pentru prima oară la masculi. De aceea la *Drosophila melanogaster* s-au elaborat tehnici care dau metodelor de detectare a mutaţiilor mai multă eficacitate, folosind în acest scop în special cromozomii sexuali.

## Metoda legării cromozomilor X

La *Drosophila melanogaster* este cunoscută o mutantă la care cromozomii X sînt sudaţi $\overline{X\ X}$ şi trec întotdeauna împreună în gamet. La această mutantă femela conţine cei doi cromozomi X sudaţi şi un cromozom Y suplimentar. Femelele produc ovule de două feluri, unele conţinînd cromozomii $\overline{X\ X}$ şi altele conţinînd cromozomul Y. Încrucişate cu un mascul normal (XY), ele vor da patru tipuri de descendenţi.

De obicei femelele $\overline{X\ X}$ X nu sînt viabile, ca şi masculii Y Y. Rămîn astfel femelele $\overline{X\ X}$ Y asemănătoare mamei şi masculii X Y. Ceea ce este excepţional în acest caz este că masculul obţinut în $F_1$ primeşte cromozomul X de la tată şi nu aşa cum se întîmplă de obicei cînd cromozomul X provine de la mamă. Tocmai această particularitate este folosită în detectarea mutaţiilor produse de radiaţii. Dacă se tratează cu factori mutageni tatăl şi dacă mutaţia se produce în cromozomul X, ea va deveni imediat aparentă la masculii din prima generaţie. Această metodă serveşte la decelarea mutaţiilor legate de sex.

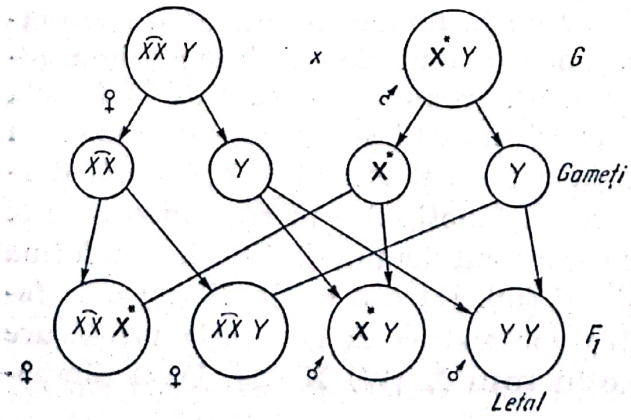



Fig. 111. Metoda legării cromozomilor X.

## Metoda C l B

Această metodă a fost elaborată de H. J. Müller şi serveşte pentru evidenţierea mutantelor recesive şi letale legate de sex la *Drosophila melanogaster*. Pentru aceasta este necesar ca cromozomul X pe care s-a produs mutaţia să-şi păstreze autonomia şi să nu rişte să fie remaniat în patrimoniul ereditar al descendenţilor printr-un eventual crossing-over, deoarece în acest caz o serie de mutaţii produse prin iradiere în cromozomul X patern nu vor fi transmise nepoţilor. De aceea se utilizează o mutantă la care femelele posedă într-unul din cromozomii X o inversie (C) care împiedică crossing-overul între cromozomii X. Inseparabil de inversia C se află, de asemenea, o genă recesivă (l), care nu-şi exercită acţiunea letală decît în stare homozigotă, fiind mascată în stare heterozigotă. În sfîrşit se utilizează gena dominantă ochi barat (B) pentru a marca prezenţa cromozomului C l şi a recunoaşte indivizii care-l posedă.

În schema alăturată este reprezentată distribuţia cromozomilor X în prima generaţie, presupunînd că cromozomul X al masculului a fost modificat prin tratament cu factori mutageni (X*).

Descendenţele fiice X (C l B) X* vor avea ochiul barat, care lipseşte la femelele X X, masculii X (C l B) Y vor muri datorită prezenţei genei letale l neacoperită de un cromozom pereche X, iar masculii X Y vor fi normali.

Pentru a obţine a doua generaţie, se încrucişează femelele cu ochi baraţi din $F_1$ care poartă cromozomul X iradiat al tatălui cu masculi normali. Din toţi aceşti descendenţi obţinuţi în $F_2$ sînt interesanţi numai masculii. Cei X (C l B) Y mor, datorită factorului letal şi de aceea proporţia sexelor în $F_2$ este 2 ♀ : 1 ♂. Toţi masculii viabili vor purta cromozomul X modificat al bunicului. Dacă în acest cromozom s-a produs o mutaţie letală şi masculii X* Y din $F_2$ vor muri. Existenţa unei astfel

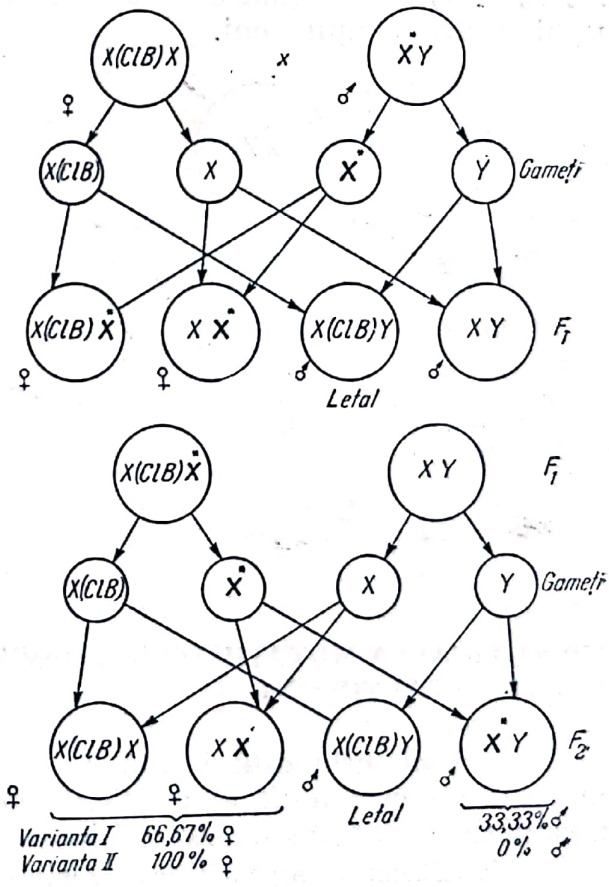



Fig. 112. Metoda C 1 B.

de mutaţii letale va fi recunoscută prin faptul că în $F_2$ nu se va obţine descendenţă masculă. Bineînţeles că dacă factorii mutageni au produs orice alt tip de mutaţie recesivă legată de sex şi neletală, ea se va manifesta la masculii X* Y viabili, obţinuţi în $F_2$.

## Metoda Muller-5

Această metodă elaborată de H. J. Muller se foloseşte pentru detectarea mutaţiilor letale sau a celor recesive apărute pe cromozomul X la *Drosophila melanogaster*. În acest scop se utilizează femele care prezintă ochi de culoare apricot *(w ᵃw ᵃ)* şi baraţi *(B B)*, mutaţii localizate pe cromozomul X împreună cu o inversie care elimină posibilitatea crossing-overului (C). Se încrucişează femele homozigote ce prezintă cele două mutaţii cu masculi trataţi cu agenţi mutageni. Femelele cu ochii baraţi din $F_1$, care au un cromozom X de tip wᵃ C B şi celălalt provenit de la masculul tratat, se încrucişează cu un mascul sălbatic. În $F_2$ jumătate din masculi au ochii apricot-baraţi, iar cealaltă jumătate piere în cazul unei mutaţii letale sau prezintă caracterul recesiv în cazul unei mutaţii recesive. Schimbarea deci a raportului dintre sexe a 2♀ : 1 ♂ înseamnă că a apărut o mutaţie letală în urma tratamentului cu agenţi mutageni.

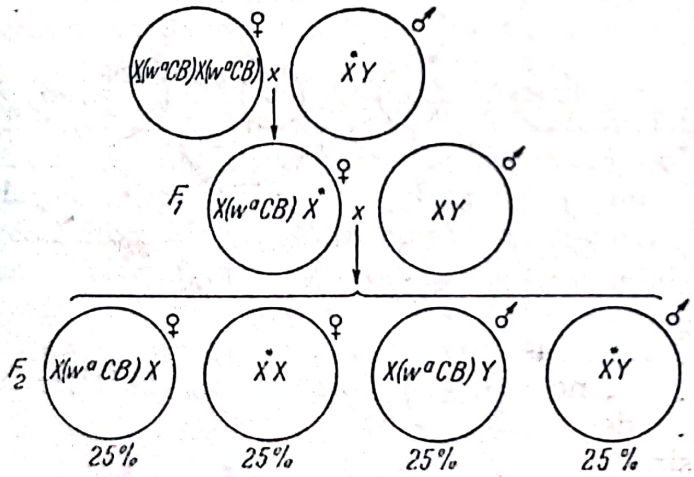



Fig. 113. Metoda Muller-5.

## IDENTIFICAREA MUTAŢIILOR RECESIVE LEGATE DE AUTOZOMI

Cînd mutaţia este legată de cromozomii somatici (autozomi), detectarea lor este mult mai dificilă datorită numărului extrem de mare de indivizi care trebuie analizaţi în acest scop.

Identificarea mutaţiilor recesive la organismele care se înmulţesc prin autofecundare este relativ uşoară, însă fenomenul este rar întîlnit

la animale şi mai frecvent la plante. La speciile de plante autogame, ovulele sînt fecundate cu polen propriu, ceea ce creează posibilităţi de urmărirea descendenţilor fiecărei plante în $F_1$ şi $F_2$. Să presupunem că avem de analizat la o plantă homozigotă *A A*, eventualitatea apariţiei unei mutaţii recesive la gameţii masculi. Polenul produs va cuprinde numeroşi grăunciori *A* şi cîţiva *a* (aceasta deoarece o parte din grăunciorii *a* sînt nefuncţionali). Ovulele *A* fecundate de polenul *a* vor da naştere unor plante heterozigote *A a* care vor avea un fenotip normal datorită dominanţei lui *A*. Ele vor fi însă în număr mult mai mic decît plantele *A A*. Pentru a avea siguranţa că printre plantele din $F_1$ pe care le urmărim se află şi plante *A a* se vor cultiva un număr mare de descendenţi $F_1$ (aproximativ 1 000) care se vor reproduce prin autofecundare. Seminţele provenite de la fiecare din aceste 1 000 de plante se seamănă apoi separat. Dacă cîteva plante heterozigote *A a* fac parte din cele 1 000 de descendenţe păstrate în $F_1$ ele vor da prin segregare în generaţia următoare ($F_2$) plante homozigote *a a* la care mutaţia este aparentă.

*Evidenţierea mutaţiilor recesive la organismele care se reproduc încrucişat este mai dificilă* şi din nefericire acest tip de mutaţii reprezintă cazul cel mai frecvent întîlnit.

P. Hertwig (1942) ocupîndu-se de această problemă şi făcînd cercetări îndeosebi la şoareci a arătat că variaţiile fenotipice care să evidenţieze mutaţiile recesive nu pot apărea decît în a treia generaţie.

Să presupunem că o femelă de şoarece a suferit o mutaţie recesivă *a* şi că ea produce N ovule dintre care numai una poartă această mutaţie. Toate aceste ovule sînt fecundate cu spermatozoizi *A* de la un mascul normal. Prima generaţie $F_1$ se compune din N-1 indivizi *A A* şi un individ heterozigot *A a*. Spre simplificare să presupunem că acest individ era un mascul. Pentru a detecta acest individ, trebuie să încrucişăm toţi masculii obţinuţi în $F_1$ cu surorile lor *A A*. Masculii normali *A A* vor produce numai descendenţi normali ($A\ A \times A\ A = A\ A$). Masculul *A a* va produce, de asemenea, descendenţi normali, din care jumătate vor fi heterozigoţi ($A\ A \times A\ a = 50\%\ A\ A + 50\%\ A\ a$). În $F_2$ fie se vor încrucişa fraţi şi surori între ei, fie se va face o retroîncrucişare $F_1$ (♂) × $F_2$ (♀) dacă acest lucru este posibil, adică dacă masculii din $F_1$ sînt încă în viaţă şi apţi pentru reproducere. Cum nimic nu permite recunoaşterea heterozigoţilor *A a*, în $F_2$ putem încrucişa $A\ A \times AA$, $AA \times A\ a$ şi $A\ a \times A\ a$. Din aceştia numai ultimii indivizi vor da 25% descendenţi la care mutaţia este evidentă în $F_3$. Dacă se retroîncrucişează femelele din $F_2$ cu taţii lor şi dacă printre acestea se află o femelă *A a* şi întîmplător ea se încrucişează cu tatăl *A a*, vom avea şanse să încrucişăm indivizi $A\ a \times A\ a$, ceea ce iarăşi va duce la apariţia mutantelor recesive în generaţia a treia ($F_3$). Intervenţia hazardului în aceste studii ne obligă să facem un număr extrem de mare de încrucişări care acoperă o durată mare de timp şi îngreuiază mult cercetările.

Scanned with OKEN Scanner

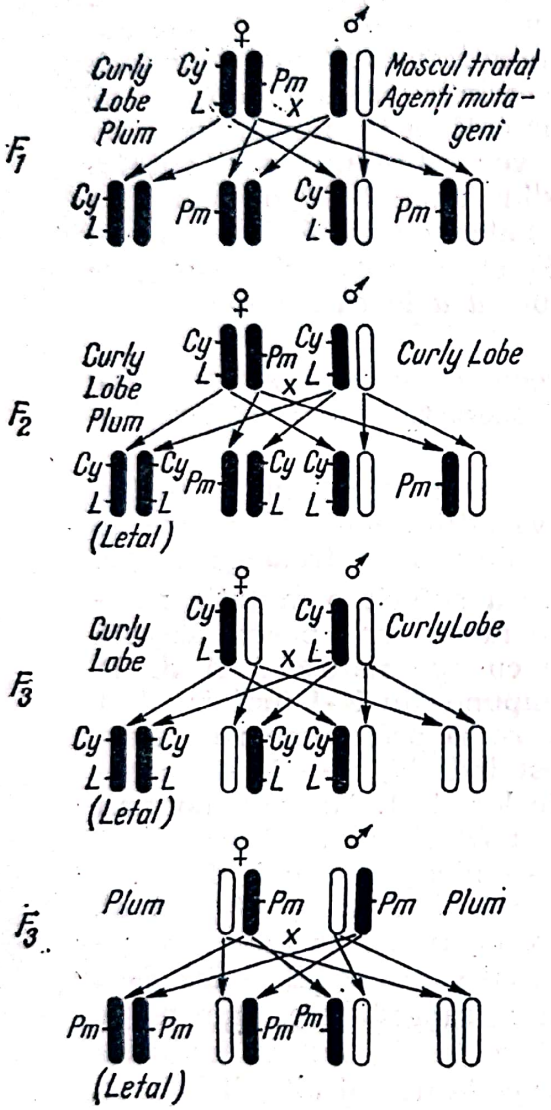



Fig. 114. Metoda genelor letale balansate.

## Metoda genelor letale balansate

Spre deosebire de cele anterioare, această metodă se folosește pentru depistarea mutațiilor letale apărute pe cromozomul II de la *Drosophila melanogaster*. În acest scop se folosesc musculițe heterozigote *Curly Lobe Plum* care prezintă pe cromozomul II concomitent 3 mutații: Curly *(Cy)*, genă dominantă care face ca indivizii să aibă aripile îndoite în sus, Lobe *(L)*, genă dominantă care determină forma lobată a ochilor, și Plum *(P m)*, genă dominantă ce determină culoarea brunie a ochilor. Deoarece tipul homozigot este letal, toți indivizii sînt heterozigoți *(Cy + L / + P m +)* și se mențin astfel de-a lungul generațiilor.

Metoda constă în următoarele: se încrucișează femela Curly Lobe Plum heterozigotă cu masculi tratați cu agenți mutageni. În $F_1$ se selecționează sau indivizii Curly Lobe *(Cy + L / + + +)* sau cei Plum *(+ Pm + / + + +)*, care se retroîncrucișează (backcross) cu tipul Curly Lobe Plum. În $F_2$ rezultă 25% indivizi homozigoți letali *(Cy + L/Cy + L)*, 25% indivizi Curly Lobe Plum *(Cy + L / + Pm +)*, 25% indivizi Curly Lobe *(Cy + L / + + +)* și 25% indivizi Plum *(+ Pm +/+ + +)*. Din această generație se selecționează din nou sau indivizii Curly Lobe sau Plum și se încrucișează între ei. Dacă se selecționează indivizi heterozigoți Curly Lobe și se încrucișează între ei, se constată în $F_3$ că 25% dintre indivizi mor, devenind homozigoți *(Cy + L / Cy + L)*, iar din restul 2/3 sînt Curly Lobe heterozigoți și 1/3 normali. Dacă prin tratamentul cu agenți mutageni a fost indusă o mutație letală pe cromozomul II, atunci nu apar în $F_3$ decît indivizi Curly Lobe, iar cei ce ar fi trebuit să fie normali pier. În cazul unei mutații recesive, 2/3 din indivizi în $F_3$

sînt Curly Lobe şi 1/3 prezintă mutaţia respectivă. În mod similar se petrec lucrurile în cazul cînd se selecţionează indivizii Plum.

## DETERMINAREA MUTAŢIILOR ENDOSPERMULUI

Această metodă a fost elaborată de L. J. Stadler (1942) pentru determinarea mutaţiilor naturale ale endospermului la porumb. În acest scop se utilizează *metoda lotului de încrucişare (crossingplot method)*, cultivîndu-se în rînduri alterne plante de porumb care prezintă un număr de gene dominante şi altele ce prezintă un număr de gene recesive. Plantele cu gene dominante se castrează, astfel că ele alcătuiesc genitorul femel, iar plantele cu gene recesive alcătuiesc genitorul mascul, raportul dintre cele 2 tipuri de plante fiind 5 : 1. În acest fel, mutaţiile privind endospermul apar chiar în anul încrucişării datorită fenomenului dublei fecundări şi ele pot fi urmărite la un număr foarte mare de indivizi.

Cercetările lui L. J. Stadler efectuate prin această metodă la un număr mare de gameţi femeli au dus la identificarea cu o precizie destul de mare a mutaţiilor endospermului în cazul a 8 gene diferite, care s-a dovedit că în condiţii naturale apar cu o frecvenţă foarte diferită.

| Genele | Nr. de gameţi femeli | Nr. de mutaţii | Frecvenţa mutaţiilor la $10^6$ gameţi |
|---|---|---|---|
| *r* (red aleurone and plant) | 554 786 | 273 | 492 |
| *Ci* (incolor endosperm) | 265 391 | 28 | 106 |
| *pr* (red aleurone) | 647 102 | 7 | 11 |
| *su* (sugary endosperm) | 1 678 736 | 4 | 2 |
| *c* (incolor aleurone) | 426 923 | 1 | 2 |
| *y* (white kernel) | 1 745 280 | 4 | 2 |
| *sh* (shrunken kernel) | 2 469 285 | 3 | 1 |
| *wx* (waxy endosperm) | 1 503 744 | 0 | 0 |

Scanned with OKEN Scanner

## DETERMINAREA MUTAȚIILOR LA POLEN

W. R. Singleton (1954) a elaborat o metodă originală de determinare a frecvenței mutațiilor în cursul microsporogenezei la porumb. În cîmpul gamma de la Brookhaven National Laboratory din S.U.A. au fost iradiate plante de porumb cu radiații gamma emise de o sursă de cobalt radioactiv ($Co^{60}$). Plantele iradiate prezentau patru gene dominante : *Su* (sugary), care este plasată pe cromozomul IV și în stare recesivă determină apariția boabelor de porumb zaharat, *Pr* (purple), care este plasată pe cromozomul V și care în stare recesivă determină apariția de boabe roșii sau purpurii, *Y* (yelow), care este plasată pe cromozomul VI și în stare recesivă determină apariția de boabe albe și gena *Sh* (shrunken) plasată pe cromozomul IX, care în stare recesivă determină formarea de boabe zbîrcite. De la plantele iradiate s-a recoltat polen care a fost utilizat pentru polenizarea unor plante de porumb care prezentau genele respective în stare recesivă, de pe un teren neiradiat. Datorită fenomenului dublei fecundări, modificările induse la nucleii spermatici din grăunciorii de polen apăreau imediat ca modificări ale endospermului, la fel ca în metoda precedentă.

Cercetările lui W. R. Singleton, efectuate prin această metodă, au arătat, în urma studiului citologic, că mutantele apar mai ales datorită unor aberații cromozomiale și mai puțin din cauza unor mutații genice. Astfel, folosindu-se linii care prezentau 4 perechi de gene alelomorfe pe cromozomul IX, s-a constatat în urma iradierii că peste 75% din mutante pierduseră un braț al cromozomului, iar peste 95% pierduseră un fragment de cromozom.

## DETERMINAREA FRECVENȚEI MUTAȚIILOR LA MAMIFERE

Cele mai numeroase cercetări privind frecvența mutațiilor apărute datorită iradierii s-au făcut la microorganisme, la *Drosophila melanogaster* și la porumb, unde a fost posibilă efectuarea de studii pe scară mare. Relativ recent s-au făcut astfel de cercetări și la șoareci în Oak Ridge National Laboratory din S.U.A. de către W. L. Russel și L. B. Russel (1959). Ei au folosit masculi ce prezentau 7 gene dominante, pe care i-au iradiat. După aceea masculii iradiați au fost încrucișați cu femele neiradiate, ce prezentau cele 7 gene respective în stare recesivă. Marea majoritate a descendenței din $X_1$ prezentau caractere dominante, însă în cazuri mai rare unele animale prezentau 1—7 caractere recesive. Aceasta datorită mutațiilor care afectau genele din cei 7 loci și determinau transformarea lor. Rezultatele bineînțeles că erau comparate cu frecvența mutațiilor în cazul animalelor neiradiate.

Cercetările efectuate de W. L. Russel și L. B. Russel la sute de mii de animale prin această metodă au arătat o creștere considerabilă

Scanned with OKEN Scanner

a frecvenţei mutaţiilor apărute în urma iradierii, aşa cum reiese din datele tabelului de mai jos :

| Doza, în roentgeni | Regiunea iradiată | Nr. de descendenţi | Nr. de mutaţii pt. cei 7 loci | Frecvenţa mutaţiilor per locus la $10^5$ gameţi |
|---|---|---|---|---|
| 0 | — | 42 833 | 1 | 0,3 |
| 300 | corpul întreg | 19 449 | 13 | 9,6 |
| 300 | regiunea posterioară | 20 959 | 12 | 8,2 |
| 0 | — | 106 408 | 6 | 0,8 |
| 600 | corpul întreg | 119 326 | 111 | 13,3 |
| 0 | — | 33 972 | 2 | 0,8 |
| 1000 | regiunea posterioară | 31 815 | 23 | 10,3 |

Aceste cercetări au demonstrat că frecvenţa mutaţiilor induse la şoareci prin radiaţii X sau gamma este mai mare decît la *Drosophila melanogaster*. De asemenea, s-a constatat că descendenţii proveniţi din masculi iradiaţi sînt în mod semnificativ mai mici ca dimensiuni decît cei proveniţi din animale neiradiate. Prin extrapolare aceste rezultate pot fi extinse la alte mamifere şi la om.

## IDENTIFICAREA MUTAŢIILOR LA MICROORGANISME

La microorganisme frecvenţa mutaţiilor variază în limite foarte mari în funcţie de specie şi caracterul sau însuşirea afectată, după cum reiese din tabelul de mai jos (după W. B r a u n, 1965).

| S p e c i i l e | Tipul mutantelor | Rata mutaţiilor per bacterie şi generaţie |
|---|---|---|
| *Salmonella aertrycke* | R → S | $5 \times 10^{-2}$ |
| *Serratia marcescens* | pigmentaţia | $1 \times 10^{-4}$ |
| *Escherichia coli* | rezistenţă la iradiere | $1 \times 10^{-5}$ |
| *Salmonella typhimurium* | rezistenţă la treonină | $4 \times 10^{-6}$ |
| *Staphilococcus aureus* | rezistenţă la penicilină | $1 \times 10^{-7}$ |

| Speciile | Tipul mutantelor | Rata mutațiilor per bacterie și generație |
|---|---|---|
| *Escherichia coli* | rezistență la fagul T 3 | $1 \times 10^{-7}$ |
| *Escherichia coli* | rezistență la fagul T 1 | $3 \times 10^{-8}$ |
| *Escherichia coli* | histidină independentă ($h^- \rightarrow h^+$) | $3 \times 10^{-8}$ |
| *Escherichia coli* | histidină dependentă ($h^+ \rightarrow h^-$) | $1 \times 10^{-6}$ |
| *Staphilococcus aureus* | rezistență la sulfatiazol | $1 \times 10^{-9}$ |
| *Escherichia coli* | dependență de streptomicină | $1 \times 10^{-10}$ |
| *Escherichia coli* | rezistentă la streptomicină | $1 \times 10^{-10}$ |
| *Pseudomonas aeruginosa* | rezistentă la streptomicină | $4 \times 10^{-10}$ |
| *Salmonella typhosa* | rezistentă la streptomicină (1000 μg) | $1 \times 10^{-10}$ |
| *Salmonella typhosa* | rezistentă la streptomicină ( 25 μg) | $5 \times 10^{-6}$ |
| *Shigellae* | rezistentă la streptomicină | $3 \times 10^{-10}$ |
| *H. pertusis* | rezistentă la streptomicină (1000 μg) | $1 \times 10^{-10}$ |
| *H. pertusis* | rezistentă la streptomicină ( 25 μg) | $6 \times 10^{-10}$ |

Limitele de variație ale frecvenței mutațiilor naturale la speciile de bacterii din tabel sînt cuprinse între 5/100 și 6/10 000 000 000, avînd deci o amplitudine foarte mare. Pentru identificarea mutațiilor naturale cît și a celor ce apar sub influența unor factori mutageni artificiali, ce măresc mult frecvența și tipurile de mutații, s-au elaborat o seamă de metode ingenioase și precise, din care vor fi prezentate cele mai cunoscute.

## Metoda chemostatului

Pentru a studia procesul apariției mutațiilor la bacterii, A. Novick și Szilard (1950) au construit un aparat foarte ingenios, denumit *chemostat*, care constă în următoarele : într-un vas de sticlă se introduc o soluție nutritivă și bacteriile de studiat, vasul fiind prevăzut cu două tuburi, unul prin care se introduce mediul nutritiv foarte încet sub formă de picături și altul prin care se evacuează excesul de umiditate, cu aceeași viteză cu care se introduce soluția nutritivă. Dacă sistemul se închide, oprindu-se introducerea mediului nutritiv și evacuarea excesului de umiditate, se observă scăderea concentrației mediului nutri-

Scanned with OKEN Scanner

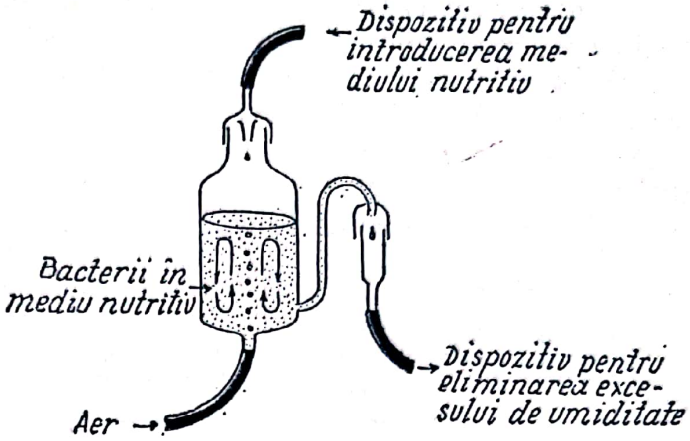



Fig. 115. Chemostatul Novick-Szilard.

tiv prin folosirea sa de către bacterii şi creşterea produselor de excreţie ale bacteriilor. În cazul sistemului deschis, introducerea mediului nutritiv şi evacuarea excesului de umiditate efectuîndu-se concomitent, se constată că în chemostat se menţine constant nivelul concentraţiei mediului nutritiv şi al produselor de excreţie. De asemenea, se poate dirija procesul de înmulţire a bacteriilor, deoarece prin introducerea unei cantităţi mai mari de mediu nutritiv bacteriile se înmulţesc mai repede, iar prin introducerea unei cantităţi mici de mediu, înmulţirea bacteriilor se încetineşte.

În cazul apariţiei unei mutaţii care se înmulţeşte cu aceeaşi viteză ca bacteria iniţială, bineînţeles că ea nu poate fi observată imediat însă cu trecerea generaţiilor, numărul descendenţilor mutaţiei ($M$) se măreşte progresiv comparativ cu numărul de bacterii ($N$). Atît timp cît $N$ este mai mare ca $M$, mutantele înmulţindu-se la fel de repede ca bacteriile normale, viteza înmulţirii mutantelor se poate determina după formula :

$$\frac{dM}{dt} = a\,N,$$

în care $t$ = timpul şi $a$ = probabilitatea apariţiei unei mutaţii la o celulă într-o generaţie. Din formulă rezultă că la un moment dat concentraţia de mutante se determină astfel :

$$\frac{M}{N} = a\,t + C,$$

în care $C$ = concentraţia de mutante în momentul începerii experienţei ($T$ o). După cum se observă din graficul alăturat, în chemostat se realizează o creştere direct proporţională a numărului de mutaţii cu creşterea numărului de generaţii.

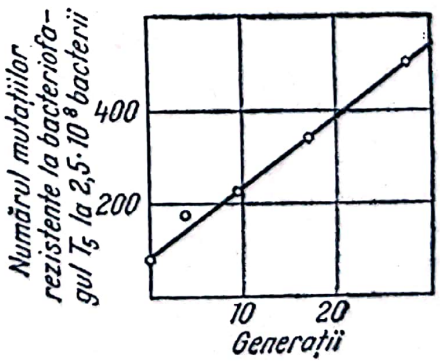



Fig. 116. Raportul dintre numărul de mutaţii şi cel al generaţiilor.

Prin introducerea în chemostat a unei cantităţi mai mari de mediu nutritiv în mod continuu are loc o scurtare a timpului necesar pentru apariţia unei noi generaţii, datorită faptului că bacteriile se înmulţesc mai repede. A. Novick şi Szilard au constatat că în acest caz are loc o creştere direct proporţională a numărului de mutaţii o dată cu mărirea timpului necesar pentru reproducerea bacteriilor, după cum se poate observa din tabelul de mai jos :

| Timpul, în ore, necesar pentru o generaţie | Nr. de mutaţii la o celulă într-o generaţie | Nr. de mutaţii la o celulă într-o oră |
|---|---|---|
| 2 | $2{,}5 \cdot 10^{-8}$ | $1{,}25 \cdot 10^{-8}$ |
| 6 | $7{,}5 \cdot 10^{-8}$ | $1{,}25 \cdot 10^{-8}$ |
| 12 | $15{,}0 \cdot 10^{-8}$ | $1{,}25 \cdot 10^{-8}$ |

Aceasta înseamnă că procesul mutagen se desfăşoară cu viteză mărită la bacteriile ce se înmulţesc mai repede, comparativ cu cele ce se înmulţesc mai încet. Cercetări similare efectuate la alte obiecte de studiu au arătat, de asemenea, că viteza procesului mutagen este corelată cu procesul de diviziune celulară şi respectiv cu reproducerea organismelor. Aceasta nu înseamnă bineînţeles că la celulele şi organismele aflate în stare de repaus nu are loc influenţa factorilor mutageni aflaţi în mediu natural de viaţă.

## Metoda fluctuaţiei

Această metodă a fost elaborată de S. E. Luria şi M. Delbrück (1943) în special pentru izolarea unor mutanţi bacterieni de *Escherichia coli* rezistenţi la diferiţi bacteriofagi. Metoda poate fi însă folosită şi pentru izolarea unor mutante rezistente la antibiotice, diferite substanţe chimice, radiaţii etc. De pildă s-a constatat că dacă se infectează o cultură de *Escherichia coli* cu bacteriofagul T 1 în exces, marea majoritate a bacteriilor sînt lizate şi numai o foarte mică parte (aproximativ 1 la $10^8$ celule) rezistă şi sînt capabile să formeze colonii pe geloză nutritivă, însuşire care se transmite la descendenţi. Problema care s-a pus a fost însă următoarea : aceste mutante preexistau în cultura de *Escherichia coli*, şi cu ajutorul infecţiei virale ele au fost numai selectate sau au apărut printr-un proces de adaptare sub influenţa viru-

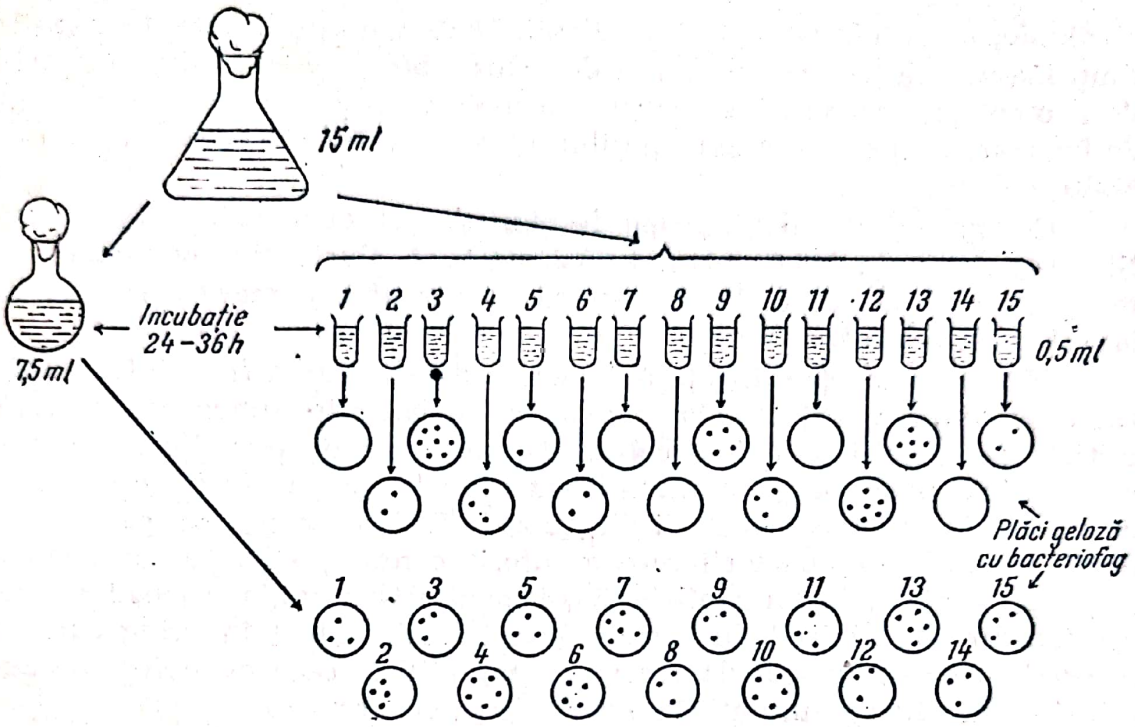



Fig. 117. Metoda fluctuației.

sului ? Pentru a da răspuns la această întrebare S. E. Luria și M. Delbrück au imaginat metoda fluctuației. În acest scop se face o cultură de bacterii, pe un mediu lichid, astfel ca să existe aproximativ 1 000 celule la un ml soluție. După aceea suspensia de bacterii nerezistente la bacteriofagul respectiv se separă în două părți : o parte (7,5 ml) se introduce într-un balon, iar altă parte (7,5 ml) se introduce în 15 tuburi, cîte 0,5 ml în fiecare. Totul se pune la incubat la 37° C timp de 24—36 ore. După acest interval de timp în care bacteriile se înmulțesc foarte rapid se trece suspensia din balon — după ce se agită bine — pe 15 plăci de geloză nutritivă în care se găsește încorporat bacteriofagul, cîte 0,5 ml pe fiecare placă. La fel se procedează și cu conținutul celor 15 tuburi care se trec pe 15 plăci de geloză nutritivă cu bacteriofag. Totul se pune la incubat la 37° C. Datorită prezenței bacteriofagului, majoritatea bacteriilor pier, însă mutațiile rezistente apărute spontan încep să crească și formează colonii care pot fi ușor numărate. Se constată că pe plăcile de geloză cu bacterii provenite din balon numărul de colonii rezistente la bacteriofag pe fiecare placă este relativ uniform (3—5 colonii), datorită faptului că bacteriile mutante au avut posibilitatea să se înmulțească în balon și prin agitare ele au fost repartizate aproape uniform în suspensie. Dimpotrivă, pe plăcile de geloză cu bacterii provenite din cele 15 tuburi se observă o variație mare a numărului de colonii : unele nu conțin nici

o colonie, iar altele între 1 şi 7 colonii. Dacă mutaţia a apărut cu puţin timp înainte de trecerea pe placa de geloză, bineînţeles că nu va apărea decît o colonie, dacă însă a apărut mai înainte, în prima parte a timpului de incubaţie, atunci ea a avut posibilitatea să se înmulţească şi apar mai multe colonii.

Comparînd cele două grupe de plăci de geloză în ce priveşte mutaţiile rezistente la bacteriofag, se constată că fluctuaţia numărului de mutaţii pe culturi paralele de bacterii este mult mai mare decît cea de la o singură cultură.

Metoda poate fi utilizată atît pentru determinarea frecvenţei mutaţiilor spontane cît şi a celor induse artificial prin supunerea culturii iniţiale de bacterii la acţiunea diferiţilor agenţi mutageni. De asemenea, este posibilă izolarea unor mutaţii individuale de pe plăcile de geloză, ce au fost inoculate cu bacterii din tuburi. Trebuie menţionat că descendenţii unei singure bacterii care a suferit o mutaţie alcătuiesc o clonă (suşă sau tulpină) în care toţi indivizii manifestă mutaţia respectivă. Cunoscînd numărul iniţial de bacterii şi cel final, apărut în urma culturii respective, se poate calcula frecvenţa mutaţiilor, care de obicei se exprimă în numărul de mutaţii la o bacterie pe generaţie.

**Metoda dispersiei**

N. Newcombe (1949) a elaborat această metodă în vederea determinării frecvenţei mutanţilor bacterieni rezistenţi la bacteriofagi, radiaţii, antibiotice etc. şi a izolării mutaţiilor respective. În acest scop, bacteriile nerezistente la streptomicină, de pildă, se cultivă pe un mediu nutritiv lichid şi apoi sînt dispersate prin inoculare pe plăci de geloză nutritivă care se inoculează la 37° C timp de mai multe ore, pînă ce se dezvoltă microcolonii de bacterii. Între aceste microcolonii dacă există mutaţii rezistente la streptomicină, ele se pot înmulţi şi dau naştere la colonii. După aceea bacteriile de pe o parte din plăcile de geloză sînt trecute în suspensie pe mediu lichid şi dispersate pe alte plăci de geloză, astfel că bacteriile dintr-o colonie ce provine dintr-o mutaţie sînt separate una de alta. Apoi se adaugă streptomicină, constatîndu-se că pe plăcile cu bacterii dispersate se formează mai multe colonii rezistente la antibiotic decît pe cele care au rămas neschimbate. Din fiecare colonie rezistentă la antibiotic se dispersează după repicaţie pe placa de geloză 8 celule rezistente, din care rezultă ulterior 8 colonii rezistente. În cazul cînd între bacteriile iniţiale nu a existat nici o mutaţie rezistentă şi apariţia de bacterii rezistente s-a făcut sub influenţa streptomicinei, numărul de colonii rezistente pe plăcile provenite prin redispersie şi pe cele neschimbate este asemănător.

Scanned with OKEN Scanner

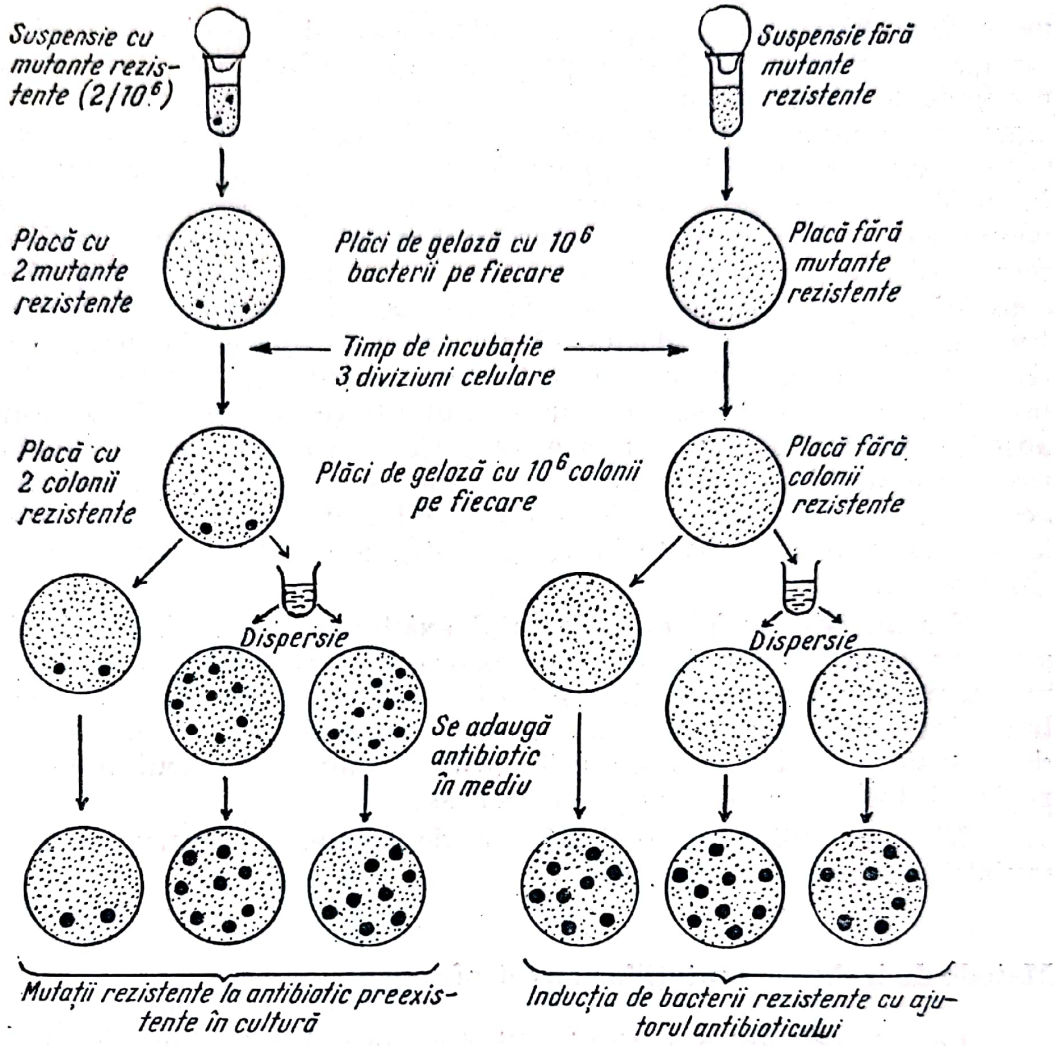



Fig. 118. Metoda dispersiei.

## Metoda replicii

Această metodă a fost elaborată de E. M. Lederberg (1952) şi, spre deosebire de cele anterioare, permite izolarea mutantelor în absenţa factorilor selectivi din mediul de cultură (bacteriofagi, antibiotice etc.). Pe o placă de mediu nutritiv cu agar se însămînţează bacterii *Escherichia coli* care sînt, de pildă, nerezistente la bacteriofagul T 1, şi după un timp de incubaţie se formează pe placă numeroase colonii. Cu ajutorul unei bucăţi rotunde de catifea sterilă, prinsă pe un mîner, se presează uşor pe suprafaţa plăcii de agar, încît pe firele catifelei, la fel ca pe nişte anse microbiologice, se prind bacterii din coloniile respective. După aceea se însămînţează consecutiv mai multe plăci de agar cu mediu nutritiv, de dimensiuni identice cu prima, prin simpla apăsare a replicatorului de catifea cu bacterii la suprafaţa plăcilor respective. Bineînţeles că se are

grijă să se păstreze poziţia replicatorului în tot timpul operaţiei. Plăcile de agar cu mediu nutritiv se pun apoi la incubat, obţinîndu-se din fiecare cîte o colonie. În acest fel se realizează un număr mare de plăci de agar cu mediu nutritiv pe care cresc colonii, toate avînd aceeaşi dispoziţie topografică. O parte din plăcile cu bacterii se infectează cu bacteriofagul T 1 şi se observă că majoritatea bacteriilor sînt lizate. Un număr redus rezistă însă la acţiunea bacteriofagului, cresc şi se înmulţesc formînd colonii. În acest fel se poate determina exact topografic locul coloniei din placa iniţială care conţine bacterii rezistente la bacteriofag. Într-adevăr prin luarea de inocul din coloniile plasate la locurile respective, este posibilă izolarea de mutante rezistente la bacteriofag. În acest fel s-a putut dovedi existenţa unor mutanţi rezistenţi la bacteriofagi, în absenţa acţiunii selective a acestora. Ca urmare se poate conchide că rezistenţa la virus poate apărea spontan sau poate fi indusă de către acesta. În mod similar s-a demonstrat existenţa unor mutante rezistente la diferite tipuri de bacteriofagi, radiaţii, antibiotice, diverse substanţe chimice etc.

S-a dovedit astfel experimental existenţa în populaţiile bacteriene a unor mutanţi capabili să asigure supravieţuirea bacteriei în condiţii de mediu pe care aceasta nu le-a întîlnit niciodată în cursul filogeniei. Trebuie ţinut însă seama că aceste mutaţii naturale au o frecvenţă extrem de redusă şi că izolarea lor este posibilă numai în cazul folosirii unei populaţii bacteriene extrem de numeroase.

Metoda replicii poate fi folosită, de asemenea, pentru izolarea unor mutaţii la ciuperci, la alge etc.

**Metode de izolare a mutaţiilor auxotrofe**

La microorganisme, tipul sălbatic normal este capabil să crească pe un *mediu minimal* care variază de la o specie la alta. Astfel, algele *Chlamidomonas* pot să-şi sintetizeze toate substanţele necesare creşterii şi reproducerii în prezenţa luminii, pe un mediu cu săruri anorganice, bioxid de carbon şi apă. La bacteria *Escherichia coli* mediul minimal este format de o soluţie de săruri anorganice şi glucoză. Tipul acesta de microorganisme capabile să crească pe mediu minimal se cheamă *prototrofe.*

Există însă la microorganisme o seamă de *mutante auxotrofe sau biochimice* care nu pot creşte pe mediu minimal. Pentru creştere şi reproducere aceste mutante au nevoie în mediu de una sau mai multe substanţe, pe care ele nu le pot singure sintetiza. Aceste substanţe pot fi : aminoacizi, vitamine, baze azotate din acizii nucleici etc.

B. D. Davis (1949) a elaborat o metodă de izolare a mutaţiilor auxotrofe la *E. coli,* care se bazează pe faptul că penicilina este capabilă să distrugă numai bacteriile care desfăşoară activitatea vitală. Dacă la o cultură de bacterii pe mediu minimal se adaugă penicilină, marea lor

Scanned with OKEN Scanner

majoritate sînt distruse și numai o foarte mică parte care sînt incapabile să crească pe mediu minimal reușesc să supraviețuiască. Acestea sînt tocmai mutațiile auxotrofe care sînt separate din mediu prin centrifugare, sînt spălate de penicilină și puse pe mediu minimal la care se adaugă diverse substanțe, pînă se determină în prezența căreia mutanta este capabilă să crească. În acest fel, la *E. coli* s-au izolat sute de mutații auxotrofe care necesită prezența în mediu de cultură a diferitelor substanțe chimice.

*Metoda Beadle-Tatum pentru identificarea mutantelor biochimice la Neurospora crassa.* La ciuperca *Neurospora crassa* au fost identificate sute de mutante biochimice printr-o metodă elaborată de G. W. Beadle și E. L. Tatum (1945). După cum se știe, această ciupercă poate crește pe un mediu minimal format din zaharuri, azotat de amoniu ca sursă de azot, cîțiva acizi anorganici și săruri, precum și vitamina biotina. Mediul standard sau complet conține însă mai multe substanțe organice, vitamine, aminoacizi și alte substanțe. Metoda constă în următoarele: conidiile ciupercii sînt tratate cu radiații sau substanțe chimice mutagene, după care sînt folosite pentru fecundarea protoperiteciului de la tipul sexual opus. Se formează astfel asce cu ascospori, care sînt cultivați pe un mediu complet. Ascosporii germinează și dau naștere mice-

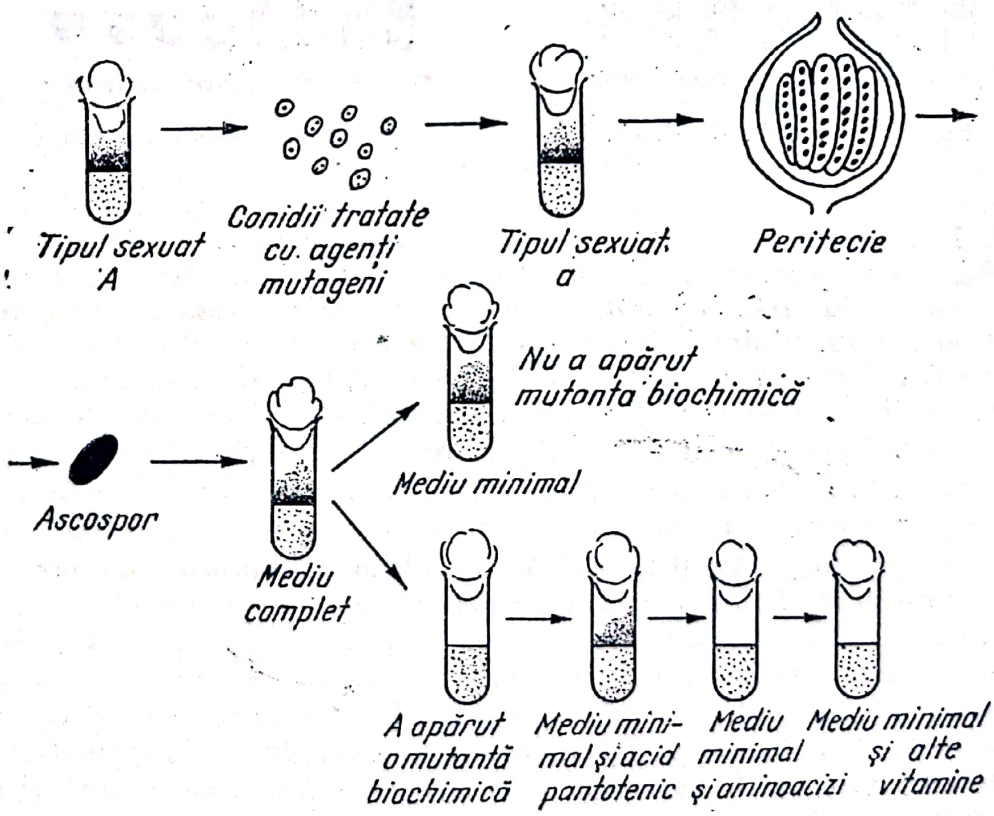



Fig. 119. Metoda Beadle — Tatum pentru identificarea mutantelor biochimice.

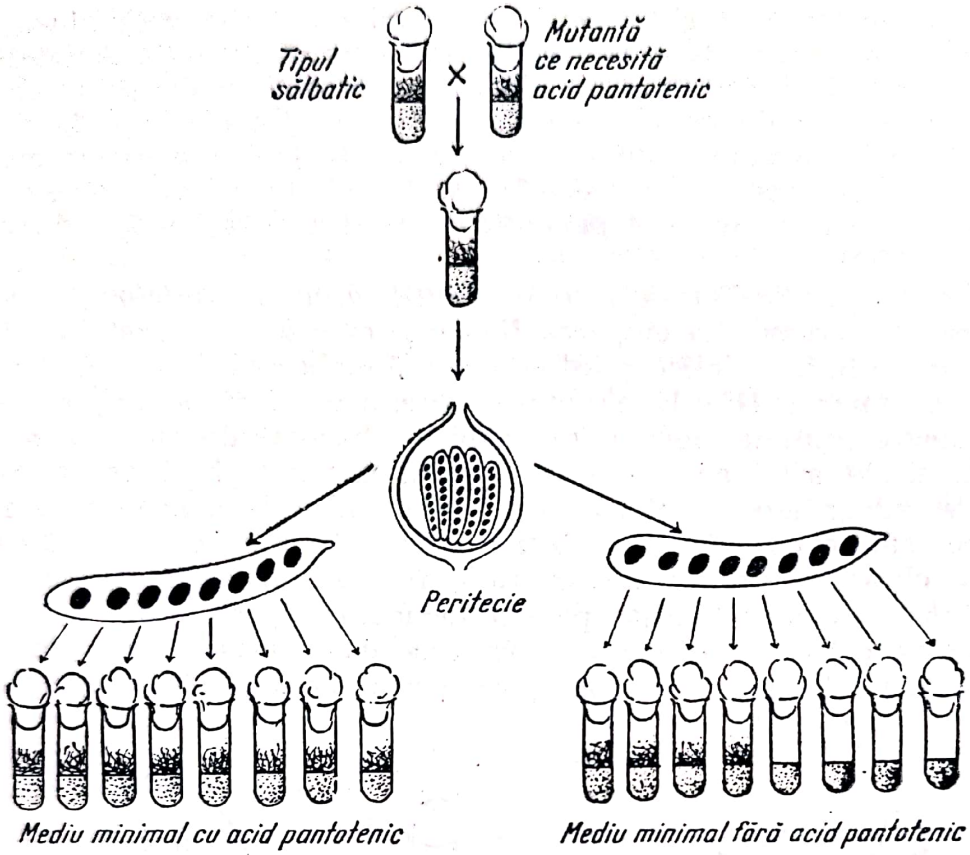


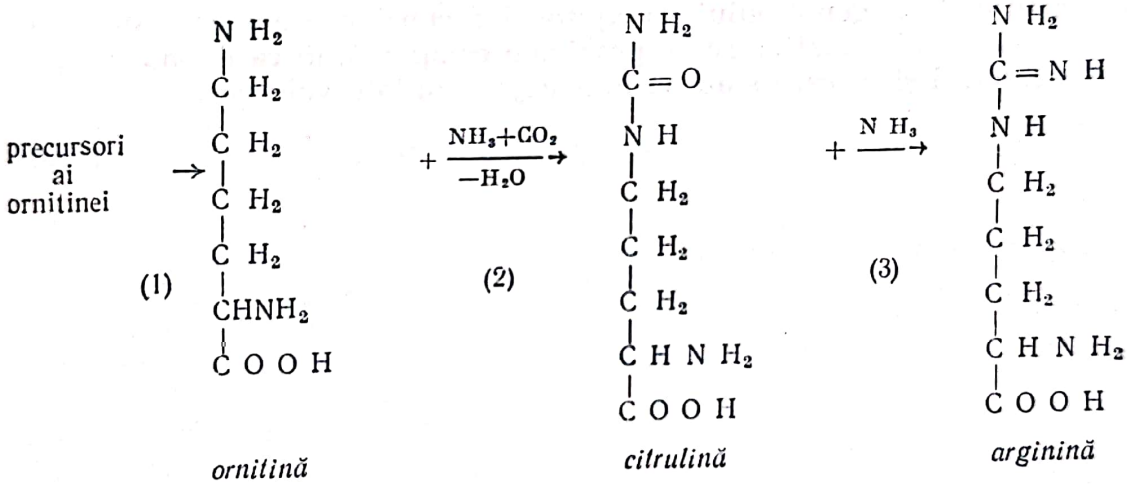

Fig. 120. Metoda de determinare a modului de transmisie ereditară a unei mutante biochimice.

liului. Din acesta se ia o parte şi se trece pe mediu minimal. Dacă miceliul continuă să crească normal pe mediu minimal, aceasta înseamnă că nu s-a produs nici o mutantă biochimică. În caz însă că miceliul nu creşte pe mediu minimal, înseamnă că s-a produs o mutantă biochimică şi urmează testarea pentru identificarea tipului de mutantă. Pentru aceasta se ia miceliu din eprubeta cu mediu complet şi se trece cîte o mică cantitate pe mediu minimal la care se adaugă diferite vitamine, aminoacizi etc. Dacă se constată, de pildă, că miceliul nu creşte pe mediu minimal, dar creşte pe mediu minimal plus acid pantotenic, aceasta înseamnă că prin procesul mutagen s-au blocat reacţiile necesare sintezei acestei vitamine. După aceea urmează determinarea modului cum se transmite ereditar mutanta biochimică respectivă. În acest scop se încrucişează tipul sălbatic cu mutanta respectivă, se cultivă pe mediu complet şi se formează asce cu ascospori. Prin cultura celor 8 ascospori într-o ască în 8 eprubete cu mediu minimal plus acid pantotenic se constată că toţi cei 8 ascospori germinează şi formează miceliu. Dacă însă se cultivă 8 ascospori dintr-o altă ască pe un mediu minimal fără acid pantotenic se constată că 4 ascospori germinează şi formează mi-

celiu, iar 4 ascospori nu germinează. Aceasta demonstrează că s-a produs segregarea între tipul sălbatic şi mutanta respectivă încă de la prima diviziune meiotică.

Cu ajutorul metodei descrise s-a reuşit identificarea a mai multe sute de mutante biochimice şi stabilirea a 7 grupe de linkage, corespunzătoare numărului haploid de cromozomi de la *Neurospora crassa.*

Prin izolarea unor mutante auxotrofe la bacterii, ciuperci etc. s-au putut efectua cercetări foarte interesante privind nu numai mutaţiile respective, dar şi *mecanismul biochimic al procesului mutagen.* Astfel, cercetările lui G. W. Beadle şi E. L. Tatum (1945) la ciuperca *Neurospora crassa* au arătat că tipul sălbatic este capabil să sintetizeze toţi aminoacizii necesari pentru proteinele sale. Există însă mai multe mutante care nu pot sintetiza aminoacidul arginina. Etapele biosintezei argininei la Neurospora sînt următoarele :




Pentru fiecare din cele trei etape ale procesului de biosinteză a argininei este necesară o altă enzimă, a cărei blocare face imposibilă creşterea ciupercii *Neurospora* pe mediu minimal. Ca urmare există de fapt trei tipuri de mutante.

Mutanta de tip 3 nu poate trăi pe un mediu fără arginină şi nici pe mediu cu precursorii ornitinei, ornitină sau citrulină. Aceasta din cauză că lipseşte enzima (3) necesară realizării ultimei etape a biosintezei argininei.

Al doilea tip de mutante nu poate trăi pe un mediu numai cu ornitină sau precursorii ornitinei, însă poate trăi pe un mediu cu citrulină sau arginină. Aceasta înseamnă că lipseşte enzima (2) necesară realizării penultimei etape a biosintezei argininei. Ultima etapă nefiind blocată, ciuperca poate folosi citrulina pentru biosinteza argininei.

Mutanta de tip 1 poate trăi pe un mediu în care există ornitină, citrulină sau arginină. Ea nu poate trăi pe un mediu numai cu precursori ai ornitinei, deoarece este blocată antepenultima enzimă (1) necesară biosintezei argininei şi ca urmare aceştia nu pot fi folosiţi pentru sinteza argininei.

Problema mecanismului biochimic al apariţiei mutaţiilor la Neurospora a fost apoi studiată prin fuzionarea unor micelii de *Neurospora crassa* şi formarea unui *heterocarion,* care este un amestec de mai mulţi nuclei diferiţi genetic în aceeaşi citoplasmă. În cazul heterocarionului format din două mutante diferite, una care are blocată enzima dintre citrulină şi arginină, iar cealaltă care are blocată enzima dintre ornitină şi citrulină, se obţine o ciupercă capabilă să folosească precursorii ornitinei, deoarece cele două mutante fiind complementare s-au completat reciproc. Aceasta înseamnă că nuclei diferiţi genetic în aceeaşi citoplasmă se pot completa unul pe altul din punct de vedere biochimic.

Cercetările privind mecanismul biochimic al apariţiei mutaţiilor sînt numai la început. Primele studii efectuate în această direcţie au arătat însă rolul genetic important al acizilor nucleici ca purtători de informaţie ereditară şi au dat primele indicaţii privind mecanismul modificării artificiale a genotipului cu ajutorul factorilor mutageni. Mecanismul molecular al mutaţiei este o problemă complexă, în care s-au început vaste cercetări şi în care s-au obţinut deja rezultate valoroase.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL XI

# POLIPLOIDIA ȘI PSEUDOPOLIPLOIDIA

## NOȚIUNI GENERALE ȘI SCURT ISTORIC

În natură numărul de cromozomi din celulele somatice ($2n$) și respectiv din celulele sexuale ($n$) este în general constant pentru o anumită specie. *Poliploidia* este fenomenul prin care numărul de cromozomi somatici al unei specii reprezintă un multiplu al numărului de bază ($x$) aparținînd unor strămoși cunoscuți sau presupuși. Se poate considera că primul poliploid a apărut o dată cu procesul sexual și respectiv fecundarea, prin care organismele dobîndesc un număr dublu de cromozomi comparativ cu celulele sexuale. De fapt, poliploidia constituie un fenomen de *mutație genomică*, adică mutație ce afectează numărul de genomuri.

Dacă se ține seama de numărul de garnituri de cromozomi din celulele somatice, organismele poliploide pot fi :

| | |
|---|---|
| — diploide . . . . $2n = 2x$ | — hexaploide . . . $2n = 6x$ |
| — triploide . . . . $2n = 3x$ | — heptaploide . . . $2n = 7x$ |
| — tetraploide . . . $2n = 4x$ | — octoploide . . . $2n = 8x$ |
| — pentaploide . . . $2n = 5x$ | — nonaploide . . . $2n = 9x$ |
| | etc. |

În natură, variația numărului de cromozomi la diferite specii este foarte mare. Astfel nematodul *Ascaris megalocephala univalens* are $2n = 2$, în timp ce radiolarul *Aulacantha* are $2n = 1\,600$ (aproximativ) ; planta *Crepis capillaris* are $2n = 6$, iar specia *Ophioglossum vulgatum* are $2n = 500—520$.

Mărirea numărului de cromozomi s-a realizat în natură pe diferite căi (variații de temperatură, încrucișare etc.) și a dus la realizarea unor serii de organisme care au un grad diferit de poliploidie. De pildă, în

genurile următoare de plante și animale există specii la care 2 $n$ este egal cu :

| | | |
|---|---|---|
| *Festuca* | ($x$ = 7) ..... | 2 $n$ = 14, 21, 28, 35, 42, 56, 70 |
| *Sorghum* | ($x$ = 5) ..... | 2 $n$ = 10, 20, 40, 60 |
| *Crepis* | ($x$ = 11) ..... | 2 $n$ = 22, 33, 44, 55, 77, 88 |
| *Chrysanthemum* | ($x$ = 9) ..... | 2 $n$ = 18, 27, 36, 45 |
| *Ascaris* | ($x$ = 1) ..... | 2 $n$ = 2, 4, 24, 48 |
| *Artemia* | ($x$ = 21) ..... | 2 $n$ = 42, 84, 168 |
| *Otiorhynchus* | ($x$ = 11) ..... | 2 $n$ = 22, 33, 44 |

Organismele poliploide, plante și animale, pot apărea atît pe *cale naturală* cît și *artificială*, sub acțiunea unor *factori poliploidizanți*, cum sînt : șocurile de temperatură, centrifugarea, influența unor substanțe chimice etc.

Primele observații privind fenomenul poliploidiei au fost făcute de botanistul rus I. I. Gherasimov (1889), care a constatat la alge din genul *Spyrogira* că prin scăderea temperaturii timp de 5—10 minute la —4° C în timpul metafazei, în urma diviziunii se formează două celule, din care una fără nucleu, iar alta cu nucleu dublu. Acesta este primul caz de obținere experimentală a unor celule vegetale cu o masă nucleară dublă.

În anul 1916, H. Winkler a denumit *genom* cromozomii din garnitura de bază ($x$), care sînt diferiți morfologic și genetic, iar fenomenul prin care în celulele somatice se află două sau mai multe genomuri a fost denumit *poliploidie*. Mai tîrziu, G. Tackholm (1922), pe baza observației că la unele organisme toate celulele somatice au același număr de cromozomi, le-a denumit *euploide*, pentru a le deosebi de cele care prezintă o variație a numărului de garnituri de cromozomi în anumite celule sau țesuturi și care au fost denumite *endoploide* sau *intraindividual poliploide*.

Organismele poliploide pot fi clasificate în *perisoploide*, la care numărul de garnituri de cromozomi este impar ($x$, 3 $x$, 5 $x$, 7 $x$ etc.), și *artioploide*, la care numărul de garnituri de cromozomi este par (2 $x$, 4 $x$, 6 $x$, 8 $x$ etc.). După originea lor, poliploizii pot fi *autopoliploizi* proveniți prin multiplicarea numărului de garnituri de cromozomi proprii, *amfiploizi* proveniți prin hibridare și *pseudopoliploizi* proveniți prin fragmentarea cromozomilor proprii.

În general numărul de cromozomi într-o garnitură nu este prea mare, el nedepășind în majoritatea cazurilor numărul de 12. La unele genuri însă, cum este, de pildă, *Populus* sau *Pyrus*, numărul de cromozomi într-o garnitură este mult mai mare, fiind 19 în primul caz și 17 în al doilea. La plantele de *Populus* triploide (2 $n$ = 57) s-a constatat însă că ele au o fertilitate aproape normală, spre deosebire de triploizii obișnuiți care sînt sterili. S-a tras de aici concluzia că este vorba de o *poliploidie secundară* și că numărul de bază este de fapt mai mic decît 19. În mod similar, studiul poliploizilor din genul *Pyrus* a dus la concluzia că și în acest caz s-a manifestat fenomenul de poliploidie secundară și că $x$ este mai mic decît 17, fiind probabil egal cu 8.

Scanned with OKEN Scanner

La plante, fenomenul poliploidiei este foarte răspîndit. După unele date, aproximativ 35% din speciile de plante superioare sînt poliploide. *În lumea animală numărul speciilor poliploide este mult mai redus,* datorită probabil mai multor cauze. În primul rînd trebuie arătat că separarea indivizilor după sex îngreuiază procesul dezvoltării poliploizilor, deoarece este necesară apariţia concomitentă a unor indivizi masculi şi femeli poliploizi, fenomen care poate avea loc cu o probabilitate redusă. În al doilea rînd, poliploidia perturbează mecanismul cromozomial de determinare a sexelor, ducînd la apariţia de organisme intersexuate, care au şanse mai reduse de supravieţuire. În sfîrşit, o a treia cauză constă în diferenţierea mai accentuată a ţesuturilor animale şi legătura mai complexă dintre ele comparativ cu plantele.

*Poliploidia este corelată cu modificări importante morfologice şi fiziologice.* Mărirea numărului de cromozomi, determină mărirea celulelor şi respectiv a habitusului plantelor şi animalelor poliploide. Cercetările lui P. Raicu şi Alex. Mihăilescu (1964) la două soiuri tetraploide de secară şi unul diploid au arătat că la plantele 4 *n* are loc o creştere mai accentuată a nucleului comparativ cu citoplasma faţă de diploizi. Astfel, în timp ce volumul celulelor tetraploide depăşeşte de 2—4 ori volumul celor diploide, volumul nucleilor la plantele 4 *n* este de 8—10 ori mai mare ca la cele 2 *n*. Raportul nucleu/citoplasmă este de 0,084 la soiul diploid Petkus şi de 0,227—0,410 la cele 2 soiuri tetraploide studiate, după cum se remarcă din datele tabelului următor:

| Soiul | Nr. cromoz. somat. | Nr. celule analiz. | Diametrul celulei | | Diametrul nucleului | | Volumul celulei | | Volumul nucleului | | Raportul nucleu/citoplasmă |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | μ | % | μ | % | μ³ | % | μ³ | % | |
| Petkus | 14 | 200 | 23,50 | 100 | 10,05 | 100 | 6791,6 | 100 | 529,6 | 100 | 0,084 |
| Wageningen | 28 | 200 | 37,65 | 160,2 | 21,45 | 213,4 | 27908,4 | 410,9 | 5157,5 | 973,8 | 0,227 |
| Hohenthurm St. A. | 28 | 200 | 30,35 | 129,1 | 20,10 | 200,0 | 14 613,9 | 215,2 | 4249,9 | 802,5 | 0,410 |

Mărirea celulelor plantelor poliploide determină ca regulă modificarea tuturor organelor vegetative: frunze, tulpini, rădăcini, flori şi inflorescenţe, care devin mai mari, încît plantele şi animalele poliploide se pot recunoaşte după habitus. Ţinînd însă seama de variabilitatea habitusului plantelor, această metodă de identificare a poliploizilor nu este suficient de sigură şi de aceea alături de metoda citologică directă de numărare a cromozomilor se foloseşte *metoda indirectă bazată pe corelaţia existentă între gradul de poliploidie şi anumite caractere morfo-*

Scanned with OKEN Scanner

*logice*. Astfel s-a constatat că la plante există o corelaţie pozitivă între dimensiunea stomatelor şi a grăunciorilor de polen, pe de o parte, şi gradul de poliploidie, pe de altă parte. Cercetările noastre (P. Raicu şi colaboratorii, 1964), efectuate asupra unor poliploizi proprii obţinuţi prin tratamente cu colchicină, au pus în evidenţă — după cum se vede din tabelul de mai jos — că la toate speciile studiate stomatele şi polenul sînt considerabil mai mari la formele 4 *n* comparativ cu cele 2 *n*, astfel că prin măsurarea lor se pot identifica cu precizie destul de mare plantele poliploide. De asemenea, numărul de cloroplaste în stomate este mai mare la plantele 4 *n*, astfel că şi acest caracter poate fi folosit pentru deosebirea plantelor 4 *n* de cele 2 *n*. Mărirea numărului de cloroplaste în stomate este corelată totodată cu creşterea cantităţii de clorofilă şi a capacităţii de fotosinteză a plantelor.

Deşi ca regulă poliploidia este însoţită de o mărire a habitusului organismelor, totuşi în unele cazuri acest fenomen nu se observă. Astfel, dublarea numărului de cromozomi la secară diploidă (2 *n* = 14) şi obţi-

| Specia | Soiul | Gradul de poliploidie | Dimensiunea stomatelor (μ) $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$ | Valoarea relativă în % | Dimensiunea polenului (μ) $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$ | Valoarea relativă în % | Nr. de cloroplaste în stomate $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$ | Valoarea relativă în % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Ageratum mexicanum* | Nanella | 2 *n* | 19,89 ± 0,18 | 100 | 18,97 ± 0,18 | 100 | 7,92 ± 0,121 | 100 |
| | | 4 *n* | 29,35 ± 0,40 | 147,5 | 25,50 ± 0,16 | 134,4 | 12,00 ± 0,159 | 151,5 |
| *Antirrhinum majus* | Brilanroza | 2 *n* | 15,57 ± 0,12 | 100 | 26,50 ± 0,12 | 100 | 16,28 ± 0,20 | 100 |
| | | 4 *n* | 23,37 ± 0,31 | 150,1 | 34,02 ± 0,17 | 128,0 | 28,37 ± 0,49 | 171,26 |
| *Citrullus vulgare* | Arad | 2 *n* | 22,01 ± 0,20 | 100 | 32,20 ± 0,22 | 100 | 11,80 ± 0,11 | 100 |
| | | 4 *n* | 32,95 ± 0,15 | 149,7 | 43,37 ± 0,20 | 134,7 | 20,96 ± 0,19 | 177,55 |
| | Brăila | 2 *n* | 24,95 ± 0,30 | 100 | 31,22 ± 0,10 | 100 | 14,41 ± 0,14 | 100 |
| | | 4 *n* | 36,10 ± 0,30 | 144,7 | 45,21 ± 0,25 | 144,8 | 26,31 ± 0,15 | 182,64 |
| *Raphanus sativus* | jumătate albă — jumătate roşie | 2 *n* | 11,94 ± 0,12 | 100 | 19,98 ± 0,01 | 100 | — | — |
| | | 4 *n* | 18,68 ± 0,24 | 155,5 | 24,33 ± 0,17 | 121,8 | — | — |
| | Eiszapfen | 2 *n* | 12,81 ± 0,12 | 100 | 20,18 ± 0,08 | 100 | — | — |
| | | 4 *n* | 18,98 ± 0,14 | 148,1 | 28,55 ± 0,13 | 141,4 | — | — |
| *Secale cereale* | 5 soiuri | 2 *n* | — | — | 47,02 ± 0,20 | 100 | — | — |
| | 8 linii | 4 *n* | — | — | 56,12 ± 0,10 | 119,3 | — | — |

nerea formelor tetraploide ($2n = 28$) determină întotdeauna apariția de plante cu creștere luxuriantă, în timp ce dublarea numărului de cromozomi la grîul comun *(Triticum aestivum)* de la $2n = 42$ la $2n = 84$ este însoțită de o reducere a habitusului și a vitalității plantelor. S-a ajuns astfel la concluzia că *fiecare specie are un grad optim al numărului de garnituri de cromozomi*, prin a cărui depășire nu se mai obțin efectele tipice poliploidiei. Astfel, secara obișnuită ($2n = 14$ ; $x = 7$) este o formă diploidă, la care se pare că prin dublarea numărului de cromozomi se ajunge la gradul optim de poliploidie, fapt care se reflectă asupra creșterii și dezvoltării plantelor. Grîul comun ($2n = 42$ ; $x = 7$) însă este o formă hexaploidă naturală, astfel că trecerea la forma 12-ploidă determină un dezechilibru morfologic și fiziologic al plantei.

La animale se observă un fenomen similar celui de la plante, în sensul că poliploidia este corelată cu mărirea dimensiunilor celulelor și respectiv a habitusului. Iată, după datele lui M a r s h a l (citat după R. H u r o n și J. R u f f i é, 1959), cum crește dimensiunea celulelor paralel cu gradul de poliploidie la *Amblystegium serpens :*

| Forma studiată | Lungimea celulelor (μ) | Lățimea celulelor (μ) | Grosimea celulelor (μ) | Volumul celulelor ($\mu^3$) |
|---|---|---|---|---|
| haploidă | 39 | 10 | 12,5 | 4 875 |
| diploidă | 59 | 11,5 | 14,5 | 9 837 |
| tetraploidă | 76 | 18 | 20 | 27 360 |

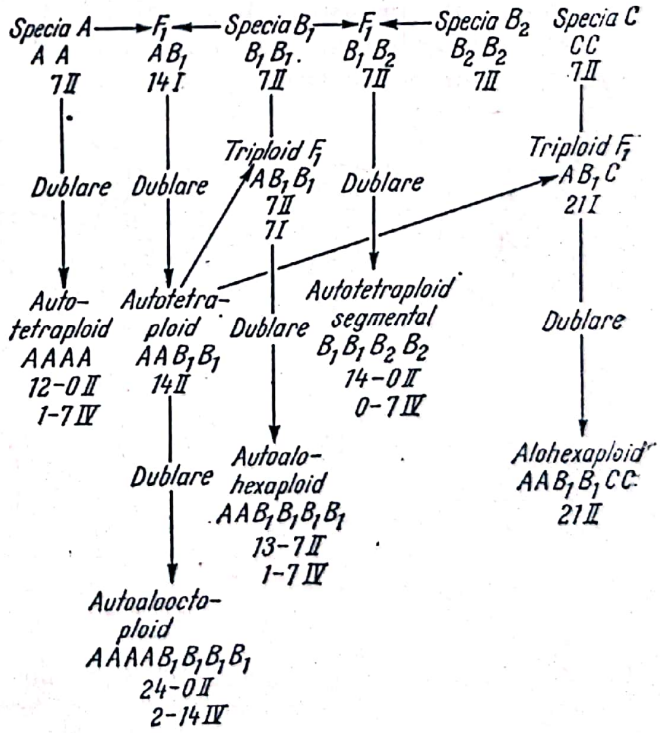



Fig. 121. Modul cum se formează diferite tipuri de poliploizi (după Stebbins, 1947).

Fenomenul poliploidiei apare nu numai în natură, dar el poate fi indus pe cale artificială atît la plante cît şi la animale. Într-adevăr în prezent sînt cunoscute cîteva sute de specii de plante şi un număr mai redus de specii animale la care s-au obţinut poliploizi artificiali.

H. Kihara şi T. Ono (1926) au clasificat poliploizii în funcţie de originea lor în două mari grupe, şi anume : *autopoliploizi* apăruţi prin mărirea numărului de garnituri de cromozomi proprii şi *alopoliploizi (amfiploizi)* apăruţi prin hibridare. O clasificare mai completă a poliploizilor a fost făcută de G. L. Stebbins (1947), care a ţinut seama de constituţia genomică şi de existenţa unor forme intermediare apărute prin auto şi alopoliploidie.

## AUTOPOLIPLOIDIA

Fenomenul autopoliploidiei este cunoscut de multă vreme, el fiind descris pentru prima oară la planta *Oenothera lamarckiana* (2 $n$ = 14), la care a apărut în condiţii naturale o formă *gigas* tetraploidă (2 $n$ = 28). Cauza apariţiei spontane a autopoliploizilor o constituie variaţia condiţiilor de mediu şi, în primul rînd, modificările bruşte de temperatură, care tulbură procesul de diviziune celulară.

E. Guyènot (1950) consideră că există trei tipuri de modificări la nivel celular care duc la apariţia autopoliploizilor : *a*) diviziuni de reducere cromozomală (meioze) anormale, care determină formarea de celule sexuale diploide (2 $n$), prin a căror unire în procesul fecundaţiei se formează un organism tetraploid (4 $n$) ; *b*) diviziuni mitotice anormale datorită nemigrării la poli a nucleilor ce rămîn închişi în aceeaşi membrană (nucleu de restituţie) prin care se formează celulele somatice te-

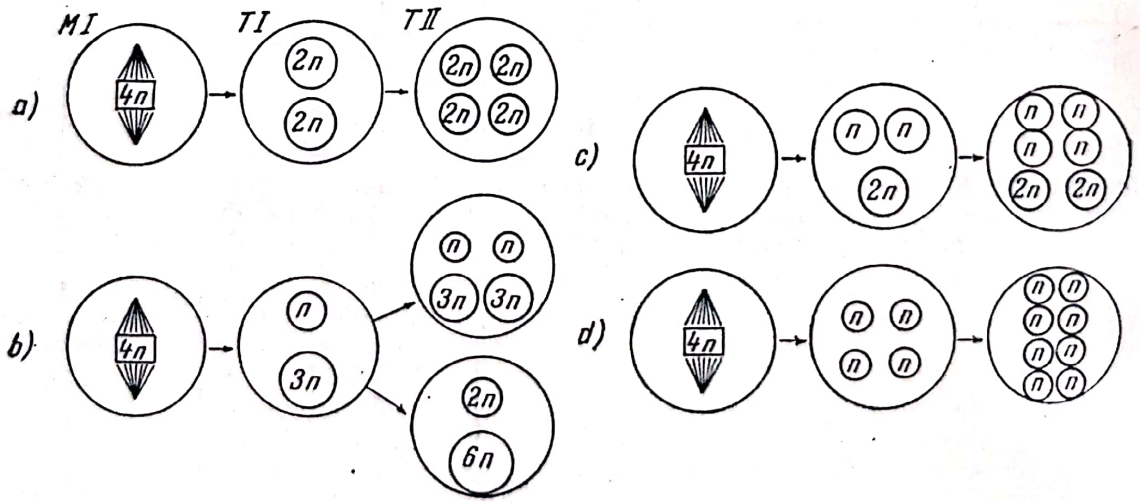



Fig. 122. Meioză normală (a) şi diferite tipuri de meioză anormală care duce la formarea de gameţi cu număr variat de cromozomi (b, c, d) (după Gottschalk, 1958).

traploide (4 *n*), ce pot constitui punctul de plecare pentru formarea unei ramuri tetraploide pe care se vor forma celulele sexuale diploide (2 *n*). Prin autofecundarea acestor flori se obțin descendenți tetraploizi ; *c*) diviziuni mitotice anormale imediat după formarea zigotului, astfel că întreg organismul devine tetraploid (4 *n*).

În prezent sînt cultivate o seamă de plante autopoliploide, selecționate de către om pentru calitățile lor superioare. Cercetări recente au dovedit că ele sînt poliploide. Printre aceste specii pot fi citate :

cartoful *(Solanum tuberosum)* . . 2 *n* = 48
lucerna *(Medicago sativa)* . . . . 2 *n* = 32
alunele de pămînt *(Arachis hypogea)* . . . . 2 *n* = 40
arborele de cafea *(Coffea arabica)* . . . . 2 *n* = 22, 44, 66, 88.

La pomii fructiferi și vița de vie sînt cunoscute, de asemenea, o seamă de varietăți, mai ales triploide, care prezintă fructe mari și nu au semințe. De pildă, la măr sînt cultivate varietățile triploide : Baldwin, Stayman Winesap și Gravenstein, iar la vița de vie sînt cunoscute mai multe soiuri triploide fără semințe cultivate pentru stafide. De asemenea, bananierul cultivat *(Musa sapientum)* este o formă triploidă (2 *n* = 33), care formează fructe fără semințe.

## Metode de inducere artificială a autopoliploidiei

Pentru inducerea artificială a autopoliploizilor au fost elaborate de către diferiți cercetători o seamă de metode atît la plante cît și la animale. Printre metodele mai cunoscute pot fi citate :

*Metoda centrifugării* constă în centrifugarea organismelor în care se află numeroase celule în stare de diviziune cu o viteză suficientă pentru a împiedica formarea fusului nuclear și migrarea cromozomilor spre poli. Apar astfel celulele cu număr dublu de cromozomi.

*Metoda regenerației* constă în producerea de răni în calusul ce se formează la locul de altoire a două plante. O parte dintre lăstarii din acest calus sînt tetraploizi.

*Metoda poliembrioniei* se bazează pe observația că un procent redus de semințe formează doi sau mai mulți embrioni, din care o parte sînt poliploizi.

*Metoda șocurilor de temperatură* se bazează pe faptul că modificările bruște de temperatură blochează cromozomii în metafază și determină apariția de celule tetraploide. La plante se folosesc șocuri de temperatură de 43—45° C timp de 24 de ore imediat după fecundație, astfel că primele diviziuni mitotice ale zigotului să fie influențate. La viermele



1—50—79

Scanned with OKEN Scanner

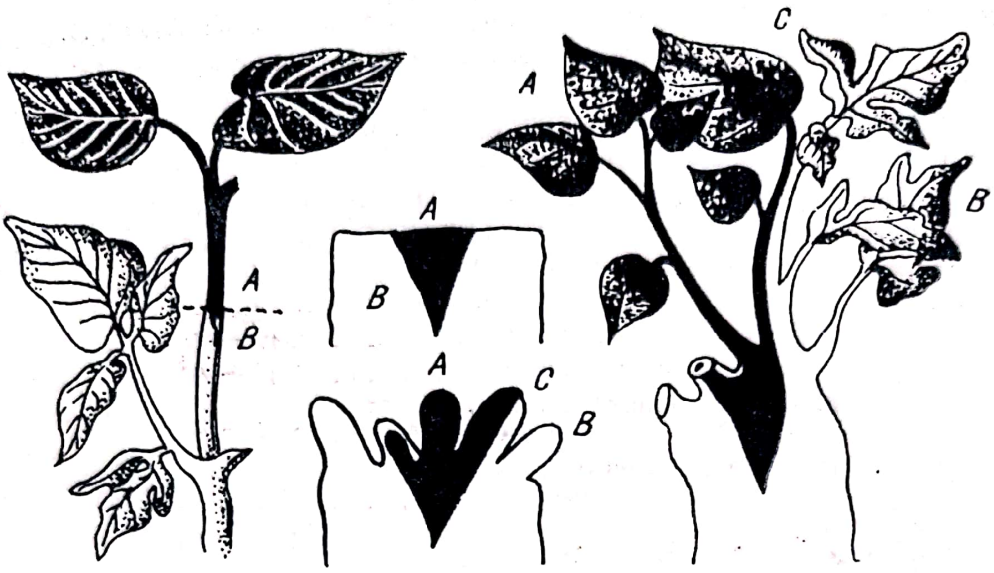



Fig. 123. Inducerea autopoliploidiei prin metoda regenerației la genul *Solanum*: altoiul (A), portaltoiul (B), mugure și lăstar poliploid (C).

de mătase *(Bombyx mori)* s-au obținut tetraploizi prin introducerea ouălor nefecundate timp de 18 minute în apă la temperatura de 46° C. Din aceste ouă s-au dezvoltat partenogenetic indivizi tetraploizi.

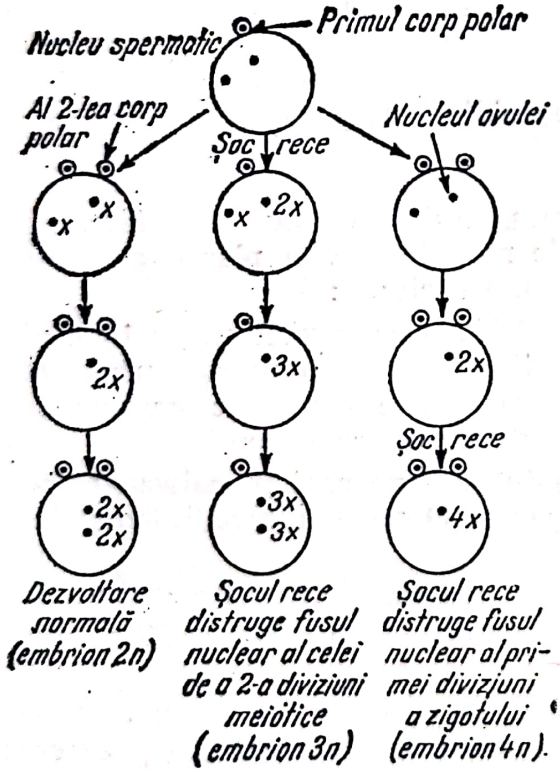



Fig. 124. Inducerea autopoliploidiei la amfibieni prin metoda șocurilor reci de temperatură.

La amfibieni s-a folosit cu rezultate bune metoda șocurilor reci imediat după intrarea spermatozoidului în ovul, deoarece la aceste animale cea de-a doua diviziune meiotică a ovulei nu se termină pînă la intrarea spermatozoidului. Ca urmare a șocului rece de temperatură, fusul nuclear este rupt și ovula devine diploidă. Prin fecundarea sa cu spermatozoizi haploizi apar embrioni triploizi. Dacă șocul rece se aplică ceva mai tîrziu, după ce fecundarea a avut loc, fusul nuclear se rupe și în urma primei diviziuni celulare anormale a zigotului apare o celulă 4 *n* din care se dezvoltă un embrion tetraploid.

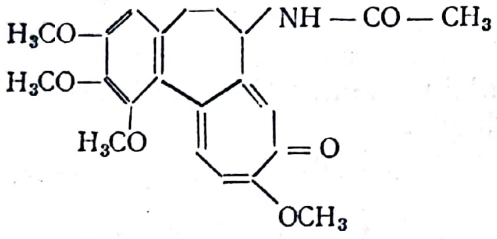
*Metoda iradierii* cu radiații ionizante constă în iradierea țesuturilor în diviziune, astfel ca fusul nuclear să fie rupt și mi-

Scanned with OKEN Scanner
18—60—110

grarea cromozomilor spre polii celulei să fie împiedicată. Se formează astfel celulele 4 *n*, din care se pot dezvolta organisme tetraploide.

*Metoda tratării cu substanţe chimice,* care acţionează fie asupra fusului nuclear, a cărui formare este împiedicată, fie asupra procesului formării membranei nucleare astfel că apar celulele cu 2-3-4 nuclei, care prin fuzionare dau naştere la celule poliploide. Din grupul substanţelor chimice poliploidizante fac parte : acenaftenul, α-monobromnaftalena, feniluretanul, paradiclorbenzenul, monoclorbenzenul etc.

*Metoda colchicinizării* este în prezent cea mai folosită metodă de inducere experimentală a poliploizilor, astfel că cele descrise mai sus au într-o anumită măsură mai multă importanţă istorică. Această metodă a fost elaborată în anul 1937 de către doi geneticieni americani A. F. Blakeslee şi A. G. Avery şi se bazează pe folosirea colchicinei, substanţă chimică cu formula brută $C_{22}H_{25}O_6N$ şi cu formula dezvoltată :




Această substanţă este un alcaloid care se găseşte în planta brîndușa de toamnă *(Colchicum autumnale),* care are 2 *n* = 38. De altfel trebuie arătat că încă din antichitate această plantă a fost folosită în scopuri medicinale şi a fost descrisă sub denumirea de *Colchicon* de celebrul botanist şi medic Dioscoride (sec. I e. n.) Colchicina este o substanţă solubilă în apă şi care sub influenţa luminii şi căldurii se degradează repede, astfel că se recomandă păstrarea ei la întuneric şi la temperaturi scăzute.

Tratamentul cu soluţii apoase de colchicină în concentraţii scăzute (0,01—1%) determină o hipertrofie a ţesuturilor tratate, însă acţiunea cea mai puternică se desfăşoară la nivelul celulelor în diviziune.

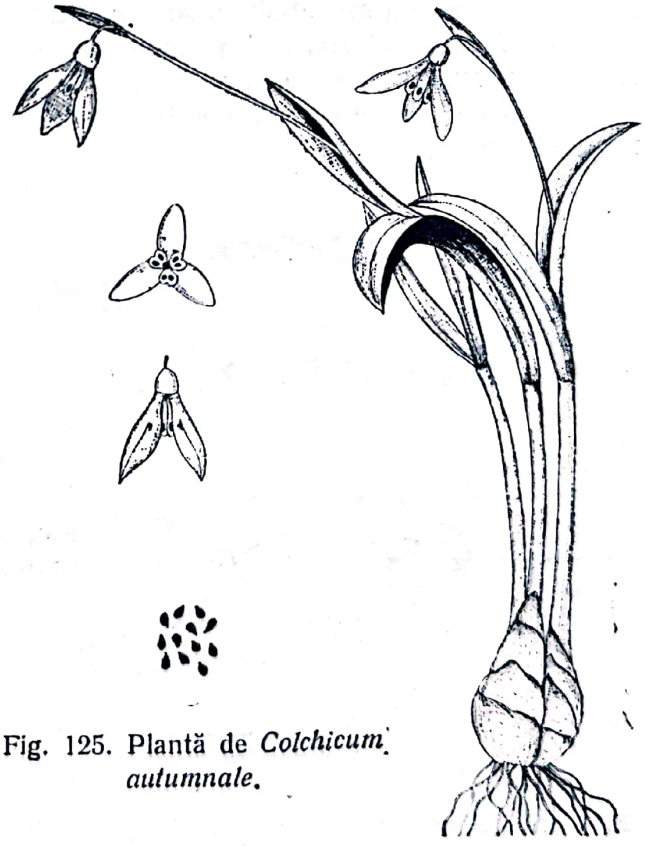


Fig. 125. Plantă de *Colchicum autumnale.*

Colchicina este o substanță tipic toxică pentru fusul nuclear, care acționează asupra legăturilor sulfhidrice din proteine, a moleculelor de riboză și a acidului ribonucleic. Sub influența colchicinei, diviziunea celulară are un aspect caracteristic denumit C-mitoză și C-meioză, citoplasma devine mai fluidă, iar cromozomii se contractă.

*C-mitoza* se desfășoară astfel : profaza are loc similar cu cea din celulele normale, însă în metafază, din cauză că nu se formează fusul nuclear, cromozomii nu se dispun în placa ecuatorială, ci se împrăștie în întreaga celulă. Este deci vorba de o pseudometafază. După aceea are loc separarea cromatidelor fiecărui cromozom, ele rămînînd însă prinse în regiunea centromerului. Brațele cromatidelor se îndepărtează și apar figuri asemănătoare cu litera X. După ce are loc separarea cromozomilor și în regiunea centromerului, ei se dispun paralel, formînd „perechi de schiuri", după expresia lui A. Levan (1938), care a studiat acest proces. În urma pseudoanafazei și pseudotelofazei, cele 4 cromatide ale unei perechi de cromozomi, devenite 4 cromozomi independenți, formează *nucleul de restituție,* rămînînd în aceeași celulă. Apare astfel o celulă tetraploidă. Dacă influența colchicinei se menține are loc o nouă C-mitoză și se formează o celulă octoploidă etc.

Influența colchicinei asupra diviziunii celulare se realizează în trei moduri :

*a*) este blocată formarea fusului nuclear și apare nucleul de restituție, fenomene care alcătuiesc așa-numita *statmocineză ;*

*b*) formarea fusului nuclear este blocată parțial, iar fenomenul se cheamă *merostatmocineză ;*

*c*) fusul nuclear este orientat neregulat, fenomen care se numește *tropocineză.*

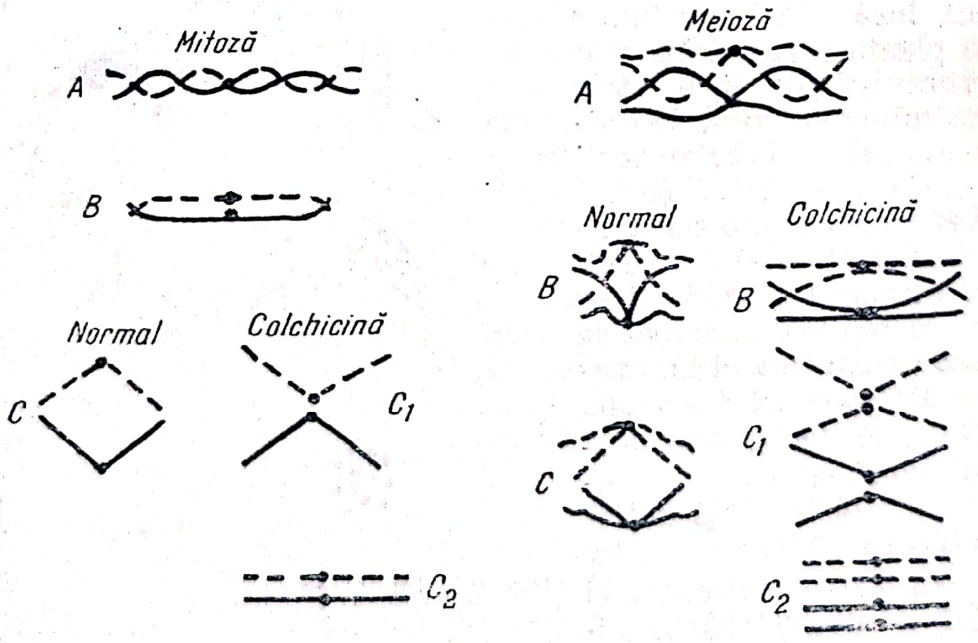



Fig. 126. Mitoza și meioza normală și sub influența colchicinei (după *Levan,* 1939).

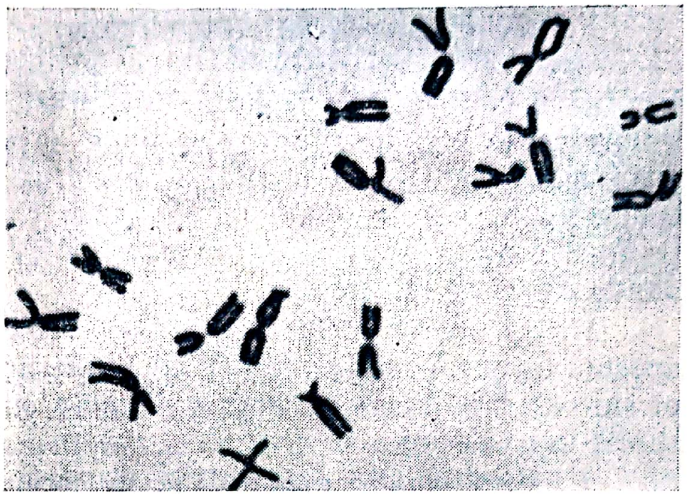


Fig. 127. Influența colchicinei asupra diviziunii mitotice la *Allium cepa* (2 $n = 16$) (original).

*C-meioza* se desfășoară astfel : sub influența colchicinei care se manifestă încă din profază, cromozomii în metafază nu apar sub formă normală de bivalenți, ci apar individual, sub formă de univalenți, dispunîndu-se mai întîi sub forma literei X și apoi în „perechi de schiuri". După aceea, toți cromozomii în pseudoanafază sînt incluși într-un singur nucleu, denumit nucleu de restituție, în loc să formeze o diadă normală. Celulele cu nucleu de restituție conțin un număr neredus de cromozomi și printr-o diviziune homotipică se formează o diadă cu două celule care au același număr neredus de cromozomi. În acest fel, în loc să se formeze o tetradă cu celule ce conțin $n$ cromozomi, apare sub influența colchicinei o diadă cu celule ce au 2 $n$ cromozomi. În alte cazuri, influența colchicinei se manifestă asupra celei de-a doua diviziuni meiotice, rezultatul fiind însă același, și anume apariția de gameți cu un număr neredus de cromozomi.

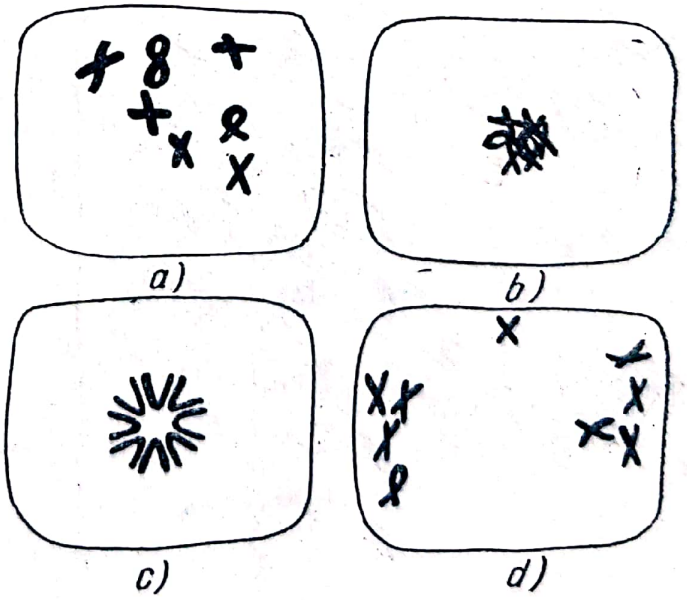



Fig. 128. Patru tipuri de statmocineză în care cromozomii se răspîndesc în diferite feluri în celulă (după Rieger, 1963).

Pentru obținerea de autopoliploizi se folosesc soluții de colchicină cu concentrații variate (0,01—1%), cu care se tratează un timp diferit semințe germinate sau negerminate, plantule, muguri, ramuri, flori sau inflorescențe etc. Rezultate mai bune se obțin în general prin tratarea țesuturilor vegetale, cum este, de pildă, cel meristematic, în care se află celule numeroase în diviziune. În urma tratamentului nu apar de obicei țesuturi complet tetraploide, ci *mixoploide,* în care alternează celule diploide cu celule tetraploide.

H. Dermen și S. L. Emsweller (1953) au studiat mixoploizii apăruți în urma tratamentelor cu colchicină și au ajuns la concluzia că ei sînt de fapt niște *himere periclinale și sectoriale,* pe care le-au clasificat în trei grupe :

*1 — poliploidie epidermică,* în care numai epiderma este 4 *n,* în timp ce țesuturile interne sînt 2 *n* ;

*2 — poliploidie internă,* în care epiderma este 2 *n,* iar țesuturile sînt 4 *n* sau mixoploide.

*3 — poliploidie totală,* în care nu există decît celule 4 *n,* nefiind deci vorba de himere.

Cercetări similare au fost efectuate de B. Nemec (1962) la *Vicia faba,* la care a constatat apariția mixoploizilor în urma tratamentului cu colchicină. De pildă, într-o rădăcină embrionară el a găsit 263 celule 4 *n* și 49 celule 2 *n,* amestecate foarte variat.

Pentru efectuarea tratamentelor cu colchicină se folosesc diferite tehnici : imersiunea semințelor în soluție, stropirea plăntuțelor cu soluție, punerea uneia sau mai multor picături pe vîrful de creștere al plantelor,

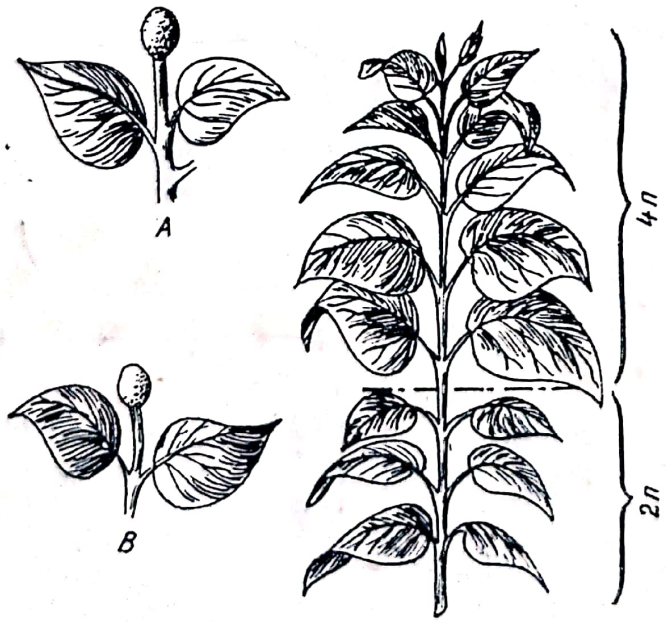



Fig. 129. Inducerea autopoliploidiei prin metoda tamponului de vată îmbibat cu soluție de colchicină (A) sau prin folosirea unei capsule de gelatină cu colchicină (B).

introducerea vîrfului ramurii sau inflorescenței în soluție, acoperirea mugurilor cu capsule de gelatină cu colchicină etc. Uneori, pentru a împiedica evaporarea rapidă a soluției de colchicină, se adaugă glicerină sau agar-agar.

La animale au fost elaborate, de asemenea, unele tehnici de tratament cu colchicină. De pildă, la viermele de mătase *(Bombyx mori)* se pot obține poliploizi prin imersia ouălor în soluție de colchicină, la *Amoeba sphaeronucleus* prin injectarea cu o micropipetă a soluției, iar la mamifere se poate efectua monta artificială cu spermă amestecată cu o soluție de colchicină.

Pentru a obține rezultate bune în urma tratamentelor cu colchicină, este necesar ca organismele tratate să fie studiate cu atenție pentru a elimina pe cele care n-au reacționat la tratament rămînînd diploide și pe cele mixoploide. În ceea ce privește mixoploizii, trebuie arătat că celulele 2 $n$ au un ritm de diviziune mai rapid ca cele 4 $n$ și de aceea, cu timpul, se constată o reversie spre forma 2 $n$. Generațiile obținute în urma colchicinizării *(Co)* se notează cu $C_1$, $C_2$, $C_3$ etc. Este necesar ca plantele obținute în urma tratamentului să fie studiate mai multe generații succesiv, deoarece la ele se poate observa fenomenul segregării în forme 2 $n$ și 4 $n$. De pildă, la *Secale cereale* și *Hordeum sativum,* P. Raicu și Alex. Mihăilescu, (1964) au observat apariția pe o aceeași plantă a unor frați 4 $n$ alături de frați 2 $n$, dezvoltați probabil din sectoare 4 $n$ și respectiv 2 $n$ ale embrionului.

## MEIOZA ȘI FERTILITATEA LA AUTOTETRAPLOIZI

După cum este cunoscut, la plantele diploide (2 $n$) în meioză cromozomii se grupează doi cîte doi formînd *bivalenți,* fapt care dă posibilitatea ca ulterior să se formeze gameți cu un număr haploid de cromozomi *(n).* La plantele autotetraploide (4 $n$) există însă cîte patru cromozomi omologi, astfel că ei se pot asocia formînd *tetravalenți.* Uneori însă cromozomii omologi se grupează cîte trei, formînd *trivalenți,* iar al patrulea rămînînd liber sub formă de *univalent.* De asemenea, la autotetraploizi mai există posibilitatea formării de *bivalenți.*

Fig. 130. Meioza la *Datura stramonium* haploidă cu $12_I$ (a), triploidă cu $12_{III}$ (b) și tetraploidă cu $12_{IV}$ (c) (după Avery, 1959).

Factorii care influenţează asocierea cromozomilor în tetravalenţi sînt următorii :

*1* — lungimea diferiţilor cromozomi, în sensul că cu cît sînt mai lungi cu atît este mai mare probabilitatea asocierii lor ;

*2* — numărul total redus de cromozomi influenţează pozitiv asocierea lor în tetravalenţi, în timp ce numărul total mare de cromozomi în celulă influenţează negativ formarea de tetravalenţi ;

*3* — frecvenţa mare a chiasmelor între cromozomii omologi măreşte şansa ca ei să rămînă împreună ca tetravalenţi şi invers.

Ca regulă, numărul tetravalenţilor este mai mic decît numărul haploid de cromozomi, deoarece întotdeauna se formează un număr variabil de trivalenţi, bivalenţi şi univalenţi. Prezenţa tetravalenţilor, trivalenţilor şi univalenţilor în meioză la autotetraploizi constituie sursa iniţială pentru repartizarea inegală a cromozomilor în gameţi. De pildă, migrarea unui trivalent spre un pol şi a univalentului respectiv spre celălalt pol al celulei constituie o cauză a repartizării inegale a cromozomilor. De asemenea, trebuie menţionat că unii cromozomi univalenţi nu migrează spre polii celulei, rămînînd în placa ecuatorială sub formă de *întîrziaţi (retardatari),* sau dacă migrează nu sînt incluşi în nucleul gametului, rămînînd în citoplasmă, unde formează aşa-numiţii *micronuclei.*

Pe de altă parte, trebuie arătat că la cromozomii tetravalenţi, deşi există posibilitatea ca ei să migreze cîte doi spre fiecare pol al celulei, datorită unei orientări variate a centromerilor faţă de fusul nuclear, se

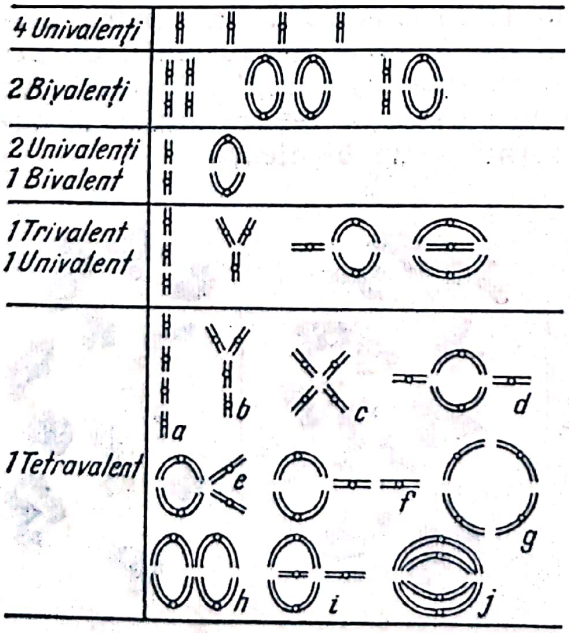



Fig. 131. Diferite tipuri de asociere a celor 4 cromozomi omologi la autotetraploizi (după Dawson, 1962).

observă adesea că ei migrează sau toți patru la un pol, sau trei la un pol și al patrulea la celălalt.

Cercetările noastre (P. Raicu și Alex. Mihăilescu, 1965) efectuate la două soiuri de *Secale cereale* tetraploidă ($2n = 28$) au arătat că în metafaza I majoritatea cromozomilor sînt grupați ca bivalenți (II), iar un număr relativ redus se află sub formă de univalenți (I), trivalenți (III) și tetravalenți (IV).

| Soiul | Nr. de metafaze analizate | Media la o celulă | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | I | II | III | IV |
| *Kefermarkter* | 200 | 0,22 | 10,68 | 0,30 | 1,38 |
| *Selecție Wageningen* | 200 | 0,15 | 9,55 | 0,09 | 2,22 |

Analiza anafazei I a arătat că numai 69,5% din totalul celulelor studiate la soiul Kefermarkter și 60% la soiul Wageningen au avut o disjuncție normală a cromozomilor de 14-14. Un procent important de celule prezintă o disjuncție anormală a cromozomilor 13-15; 12-16, 13-1-14, 12-2-14 etc., după cum se vede din tabelul următor.

| Tipul disjuncției | Kefermarkter | Wageningen |
|---|---|---|
| 14 — 14 | 69,5 | 60,0 |
| 13 — 15 | 12,0 | 10,5 |
| 12 — 16 | 0,5 | — |
| 13 — 1 — 14 | 8,5 | 9,5 |
| 12 — 2 — 4 | 0,6 | 1,0 |
| alte tipuri | 9,0 | 19,0 |

Consecința acestei repartizări inegale este formarea de gameți cu $2n = 12, 13, 15, 16$ cromozomi, care sînt nefuncționali, sau duc la formarea de plante aneuploide cu $2n = 26, 27, 29, 30$ cromozomi, plante cu vitalitate redusă.

La soiul Kefermarkter analizîndu-se anafaza II s-a constatat că numai 70% din celule sînt normale, iar 30% prezintă 1-2-3 cromozomi întîrziați. Prezența acestor cromozomi univalenți ce rămîn un timp în placa ecuatorială este corelată cu formarea micronucleilor, care se observă foarte bine în tetrade. Analiza citologică a unui număr mare de tetrade la cele două soiuri tetraploide de secară a pus în evidență faptul că numai 76,63% din tetrade la soiul Kefermarkter și 73,04% din tetrade

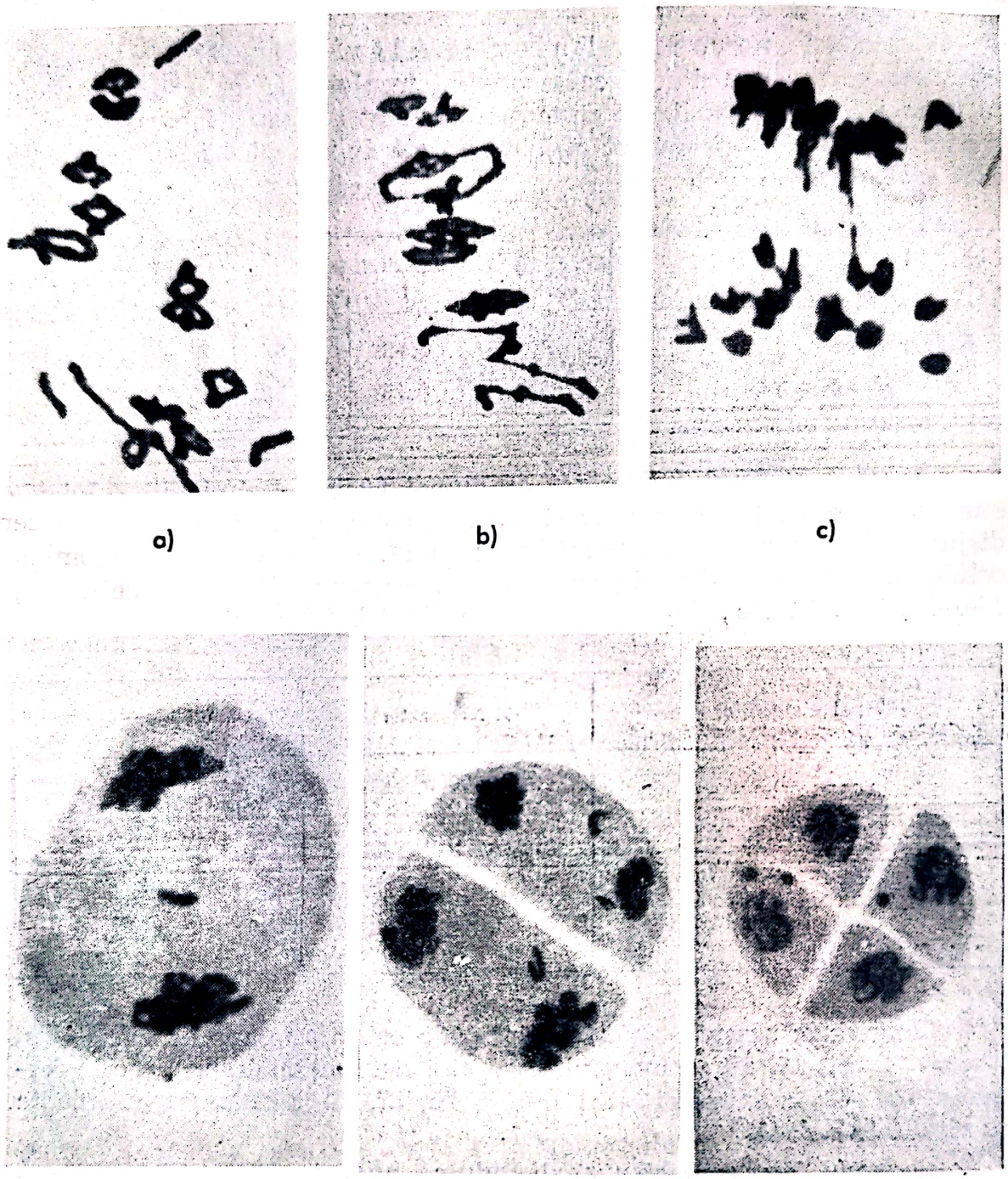



Fig. 132. Meioza la secară tetraploidă : metafaza I (a și b), anafaza I (c), telofaza I (d), telofaza II (e) și tetrade cu micronuclei (f) (original).

Scanned with OKEN Scanner

la soiul Wageningen sînt normale, restul avînd 1-7 micronuclei, după cum se vede din tabelul următor :

| Varianta | Kefermarkter | Wageningen |
|---|---|---|
| număr de tetrade analizate | 843 | 816 |
| tetrade normale | 76,63 | 73,04 |
| tetrade cu 1 micronucleu | 8,54 | 14,58 |
| tetrade cu 2 micronuclei | 9,37 | 10,54 |
| tetrade cu 3 micronuclei | 2,14 | 1,23 |
| tetrade cu 4 micronuclei | 1,54 | 0,61 |
| tetrade cu 5 micronuclei | 1,42 | — |
| tetrade cu 6 micronuclei | 0,24 | — |
| tetrade cu 7 micronuclei | 0,12 | — |

Faptul că la plantele autotetraploide polenul nu conţine numărul normal de cromozomi a fost pus în evidenţă şi la alte specii. De pildă, la *Lycopersicum esculentum* tetraploid s-a constatat că numărul normal de cromozomi 2 $n = 24$ îl au numai 81% din grăunciorii de polen (după Kostoff şi Kandell), 71% (după Lesley şi Lesley) şi 63% (după Upcott), ceilalţi grăunciori de polen avînd 20—23 sau 25—28 cromozomi. Iată rezultatele obţinute de aceşti cercetători (citate după G. W. Dawson, 1962) :

| Autorii | Nr. de grăunciori de polen cu numărul următor de cromozomi | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
| *Kostoff şi Kandell* | 2 | 1 | 7 | 15 | 187 | 12 | 4 | 2 | 1 |
| *Lesley şi Lesley* | — | — | 3 | 5 | 35 | 6 | — | — | — |
| *Upcott* | — | — | 4 | 16 | 63 | 13 | 4 | — | — |

La plantele autotetraploide, ca urmare a unei meioze relativ anormale, se observă reducerea fertilităţii plantelor şi apariţia de forme aneuploide cu o vitalitate mai redusă. Studiul unei colecţii de 15 linii autotetraploide de secară, efectuat de P. Raicu şi Alex. Mihăilescu (1962), a arătat că fertilitatea medie a fost de numai 46,75%, în timp ce la trei soiuri diploide fertilitatea a fost de 63,23%.

Deşi la autotetraploizii induşi artificial se remarcă reducerea fertilităţii plantelor, în natură există numeroase specii autotetraploide cu

Scanned with OKEN Scanner

fertilitate normală. Aceasta se datorește probabil faptului că autotetraploizii prezentînd anumite caractere și însușiri superioare diploizilor au supraviețuit, mai ales că la autopoliploizi există posibilitatea reproducerii lor pe cale vegetativă. Ulterior, prin selecție naturală s-a îmbunătățit treptat fertilitatea, eliminîndu-se formele la care meioza era anormală, precum și formele aneuploide cu vitalitate redusă. Ca rezultat al acestei selecții s-au păstrat formele autotetraploide la care în meioză cromozomii se grupează sub formă de bivalenți sau tetravalenți orientați de așa natură față de fusul nuclear încît disjuncția cromozomilor se face normal.

Pe baza cercetărilor lui D. Kostoff (1949) privind corelația dintre lungimea cromozomilor și gradul de sterilitate al autotetraploizilor s-a constatat că la plantele cu cromozomi lungi, cum este *Festuca,* sterilitatea este mult mai mare (46,6%) decît la plantele cu cromozomi mijlocii (*Nicotiana* cu 23,5% sterilitate) sau scurți (*Beta* cu 4,1% sterilitate).

**Meioza și fertilitatea la triploizi**

Plantele triploide se pot obține principial pe două căi : prin încrucișarea unui genitor 2 *n* cu unul 4 *n* sau prin unirea în procesul fecundației a unui gamet neredus (2 *n*) cu un gamet normal (*n*). În unele cazuri însă, formele tetraploide sînt izolate de cele diploide prin aceea că nu se încrucișează și ca urmare nu se obțin triploizi. Acest fenomen se poate observa la *Secale cereale, Hordeum sativum, Datura stramonium* etc. În cazul cînd prin încrucișarea formelor 2 *n* cu 4 *n* se obțin plante 3 *n*, ca, de pildă, la *Beta vulgaris* sau *Populus tremula,* acestea sînt însă complet sau aproape complet sterile.

Ținînd seama că la triploizi există cîte trei cromozomi omologi, în meioză ei se pot uni, formînd *trivalenți.* Ca regulă însă, numai o parte din cromozomi se unesc sub formă de trivalenți, iar restul formează *bivalenți* și *univalenți.* De pildă la *Lycopersicum esculentum* triploid (2 *n* = 36) numărul mediu de trivalenți este de 4,9, iar la *Lilium tigrinum* (2 *n* = 36) este de 9,4, deci considerabil mai puțin decît numărul maxim de 12 trivalenți. Unirea cromozomilor sub formă de trivalenți este influențată de aceeași factori ca și în cazul autotetraploizilor.

Ținînd seama de formarea de trivalenți, bivalenți și univalenți în meioză, disjuncția cromozomilor nu se poate face egal la cei doi poli ai celulei și ca urmare apar gameți cu număr variat de cromozomi. De pildă, la sfecla de zahăr triploidă (2 *n* = 27) se pot forma nouă trivalenți, însă de obicei numărul lor este mai mic, ei fiind acompaniați de un număr variabil de univalenți și bivalenți care se orientează pe bază de hazard în placa ecuatorială. De aceea gameții vor avea un număr variat

Scanned with OKEN Scanner

de cromozomi, cuprins între 9 şi 18. Dintre toţi aceşti gameţi, numai cei care au 9 şi 18 cromozomi sînt funcţionali, în timp ce restul (10, 11, 12, .....17) sînt complet sau parţial nefuncţionali.

Iată după G. W. P. Dawson (1962) cum variază numărul de cromozomi în gameţi la formele 3 *n* de *Hyacinthus* şi *Petunia :*

| Speciile | Nr. de grăunciori de polen cu numărul următor de cromozomi | | | | | | | | | | Nr. mediu de cromozomi la un grăuncior de polen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | |
| *Hyacinthus* (2 *n* = 3 *x* = 24) | — | 4 | 31 | 89 | 121 | 121 | 88 | 40 | 6 | 4 | 11,59 |
| *Petunia* (2 *n* = 3 *x* = 21) | 1 | 12 | 32 | 40 | 41 | 20 | 5 | 1 | — | — | 10,27 |

Datele prezentate la mai multe forme triploide, arată convingător că din cauza variaţiei foarte mari a numărului de cromozomi în gameţi, aceştia sînt în majoritate nefuncţionali, iar planta este aproape complet sterilă. Puţinii descendenţi care se obţin de la formele triploide sînt aneuploizi, cu vitalitate redusă şi instabili din punct de vedere genetic.

La formele cu un grad diferit de poliploidie meioza decurge principial la fel ca la tetraploizi sau respectiv triploizi, în funcţie de faptul dacă este vorba de artioploizi sau perisoploizi.

## Importanţa practică a autopoliploizilor

Cercetări vaste efectuate la un număr mare de specii au permis obţinerea artificială a unui număr considerabil de forme tetraploide şi triploide, din care unele prezintă importanţă practică. În primul rînd trebuie subliniat că aceste cercetări au pus în evidenţă faptul că anumite tipuri de plante se pretează mai bine pentru a fi poliploidizate, şi anume :

*1.* — Plantele care prezintă în mod natural un număr relativ redus de cromozomi.

*2.* — Plantele alogame pot fi mai uşor poliploidizate decît cele autogame.

*3.* — Plantele cultivate pentru organele lor vegetative (frunze, tulpini, rădăcini, flori) dau mai bune rezultate prin poliploidizare decît cele cultivate pentru seminţe.

Din cauză că autopoliploizii au un număr mai mare de genomuri, procesul lor de segregare este mai complicat ca al diploizilor. La un tetraploid, de pildă, în meioză cei patru cromozomi omologi pot forma un

Scanned with OKEN Scanner

tetravalent, însă uneori ei formează doi bivalenţi sau un trivalent şi un univalent. Iată un exemplu de segregare, după A. M. S r b şi R. D. O w e n (1952) : dacă se ia în consideraţie perechea de alele *A a*, la un autotetraploid sînt posibile două tipuri de homozigoţi *A A A A* şi *a a a a*, precum şi trei tipuri de heterozigoţi *A A A a*, *A A a a*, *A a a a*. Segregarea la autotetraploidul cu genotipul *A A a a*, considerînd că genele sînt plasate pe cromozomi foarte aproape de centromer, încît nu are loc crossing-over şi că cei patru cromozomi se separă cîte doi, este bazată pe tipurile de gameţi care se formează :

| ♀ \ ♂ | *A* | *A* | *a* | *a* |
|---|---|---|---|---|
| *A* | | *A A* | *A a* | *A a* |
| *A* | | | *A a* | *A a* |
| *a* | | | | *a a* |
| *a* | | | | |

şi anume 1 *A A* : 4 *A a* : 1 *a a*. Prin autofecundarea unei plante heterozigote care produce aceşti gameţi se obţin următoarele combinaţii :

| ♀ \ ♂ | 1 *A A* | 4 *A a* | 1 *a a* |
|---|---|---|---|
| 1 *A A* | 1 *A A A A* | 4 *A A A a* | 1 *A A a a* |
| 4 *A a* | 4 *A A A a* | 16 *A A a a* | 4 *A a a a* |
| 1 *a a* | 1 *A A a a* | 4 *A a a a* | 1 *a a a a* |

Dintre genotipurile obţinute numai 1 *A A A A* şi 1 *a a a a* sînt homozigote, iar restul de 8 *A A A a*, 18 *A A a a* şi 8 *A a a a* sînt heterogizote. După fenotip, segregarea se face în raport 35 *A* : 1 *a*.

Dacă se ţine seama că la tetraploizi cei patru cromozomi omologi sînt de fapt formaţi din opt cromatide, la un genotip heterozigot *A A a a* se formează următoarele tipuri de gameţi : 6 *A A* : 16 *A a* : 6 *a a* sau 3 *A A* : 8 *A a* : 3 *a a*.

Scanned with OKEN Scanner

| ♀ \ ♂ | *A* | *A* | *A* | *A* | *a* | *a* | *a* | *a* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *A* | | *A A* | *A A* | *A A* | *A a* | *A a* | *A a* | *A a* |
| *A* | | | *A A* | *A A* | *A a* | *A a* | *A a* | *A a* |
| *A* | | | | *A A* | *A a* | *A a* | *A a* | *A a* |
| *A* | | | | | *A a* | *A a* | *A a* | *A a* |
| *a* | | | | | | *a a* | *a a* | *a a* |
| *a* | | | | | | | *a a* | *a a* |
| *a* | | | | | | | | *a a* |
| *a* | | | | | | | | |

Prin combinarea celor trei tipuri de gameţi masculi şi femeli în cazul autofecundării plantelor respective se realizează următoarele genotipuri : 9 *A A A A*, 48 *A A A a*, 82 *A A a a*, 48 *A a a a* şi 9 *a a a a*. Ca fenotip, segregarea se produce astfel : 187 *A* : 9 *a*, adică aproximativ 21 : 1.

| ♀ \ ♂ | 3 *A A* | 8 *A a* | 3 *a a* |
|---|---|---|---|
| 3 *A A* | 9<br>*A A A A* | 24<br>*A A A a* | 9<br>*A A a a* |
| 8 *A a* | 24<br>*A A A a* | 64<br>*A A a a* | 24<br>*A a a a* |
| 3 *a a* | 9<br>*A A a a* | 24<br>*A a a a* | 9<br>*a a a a* |

În tabelul următor este prezentată segregarea la cele trei genotipuri diferite heterozigote la autotetraploizii autofecundaţi, ţinînd seama de existenţa a patru cromozomi omologi şi respectiv opt cromatide :

| Genotipul heterozigot | Raportul de segregare | |
|---|---|---|
| | segregare cromozomică | segregare cromatidică |
| *A A A a* | *A* | 783 *A* : 1 *a* |
| *A A a a* | 35 *A* : 1 *a* | 20,8 *A* : 1 *a* |
| *A a a a* | 3 *A* : 1 *a* | 2,4 *A* : 1 *a* |

Scanned with OKEN Scanner

Din datele tabelului reiese că la autotetraploizi tipul recesiv apare cu o frecvență mult mai redusă decît la diploizi la care raportul de segregare în cazul unei perechi de alele este 3 : 1.

Studiul segregării la tetraploizii la care se iau în considerare două perechi de alele este și mai complicat. Astfel în cazul genotipului *A A a a, B B b b*, prin autofecundare se obține în descendență următoarea segregare după fenotip :

$$1225\ A\ B : 35\ A\ b : 35\ a\ B : 1\ a\ b.$$

Acest raport de segregare se deosebește considerabil de cel similar în cazul diploizilor (9 : 3 : 3 : 1), tipul cu ambele caractere recesive sau cu un caracter recesiv și unul dominant manifestîndu-se cu o frecvență foarte mică. În sfîrșit, dacă se iau în considerare trei perechi de alele, fenotipul cu trei caractere recesive apare numai în proporție de 1 : 45 000.

Concluzia acestor cercetări este că în cazul cînd se urmărește obținerea unor combinații de caractere cu importanță practică la autopoliploizi, este necesar a se lucra cu un număr mare de indivizi pentru a se putea găsi în descendență tipul dorit.

În prezent sînt cultivate o seamă de soiuri tetraploide și triploide la numeroase plante, datorită faptului că ele prezintă calități superioare celor diploide.

La *Secale cereale* ($2n = 14$) există în prezent mai multe soiuri tetraploide ($2n = 4x = 28$), cum sînt Dublestal în Suedia, Tetra Petkus în Germania, Svalöf Furex în S.U.A. etc. La noi în țară A. Priadcencu și L. Moisescu (1964) au selecționat o secară tetraploidă apărută în mod spontan, iar P. Raicu și Alex. Mihăilescu (1964) au obținut prin selecție după fertilitate și prin încrucișarea între diferite linii străine 4 *n* de secară, patru linii de perspectivă *Poli—5, Poli—6, Poli—10* și *Tetrahibrid—28* care depășesc în producție formele diploide. De asemenea, au obținut prin colchicinizare o linie de secară de toamnă și una de primăvară tetraploide.

La *Beta vulgaris* ($2n = 18$) s-a trecut în mare măsură la cultivarea formelor poliploide ce dau producții mai mari de rădăcini și au un procent mai ridicat de zahăr. De fapt la sfecla de zahăr se cultivă un amestec de forme 2 *n*, 3 *n* și 4 *n* obținute prin încrucișarea celor diploide ($2n = 18$) cu cele tetraploide ($2n = 36$). În acest amestec însă predomină (peste 60%) formele 3 *n* și 4 *n* care sînt mai productive, în special cele 3 *n* care manifestă și fenomenul heterozis. La noi în țară, Z. Stănescu și colaboratorii (1963, 1964) au creat mai multe linii poliploide, cum sînt R. Poli 1 și R. Poli 3 care au fost deja introduse în cultură.

La *Trifolium pratense* și *T. repens* s-au obținut soiuri tetraploide valoroase care se cultivă pentru furaj, cum sînt : Tetra în Suedia, Bernburg și Lüsewitz în Germania, trifoiul roșu cu frunza mare în Polonia etc.

Scanned with OKEN Scanner

La *Citrullus vulgare* s-au obținut în Japonia și S.U.A. forme triploide care produc fructe fără semințe, forme obținute prin încrucișarea plantelor 4 *n* (♀) cu cele 2 *n* (♂). Plantele 3 *n* formează mai multe fructe, cu un procent mai mare de zahăr și sînt lipsite de semințe, astfel că în fiecare an trebuie făcute hibridări între 4 *n* × 2 *n*.

P. Raicu și I. Anghel (1966) au creat forme tetraploide la soiurile de pepene verde Brăila și Arad, obținînd, de asemenea, mai mulți triploizi prin încrucișarea acestora cu forme diploide. Plantele tetraploide manifestă fenomenul de gigantism, avînd toate organele mai mari decît cele diploide, iar fructele tetraploide și triploide au o cantitate mai mare de zaharuri și de substanță uscată, precum și o aciditate mai redusă.

Soiuri autotetraploide induse artificial sînt în prezent cultivate și la alte specii de plante, ca, de pildă, muștar, napi, sfecla roșie, spanac, ridiche, mărar, vița de vie etc.

Soiuri triploide lipsite de semințe s-au obținut nu numai la pepenele verde, dar și la alte plante la care acest caracter este dorit, ca, de pildă, la castravete și la bananier. La măr se cultivă numeroase soiuri triploide (2 *n* = 51), cum sînt: Baldwin, Turley, Stayman, Arkansas, Rhode Island Greenine, Winesap, Gravenstein etc. După datele lui G. M. Darrow (1949), un sfert din soiurile de măr cultivate în S.U.A. sînt triploide. Printre plantele triploide selecționate inconștient de om pot fi citate bananierul *(Musa sapientum)*, ceaiul *(Thea sinensis)*, dudul alb *(Morus alba)*, plopul tremurător *(Populus tremula)* etc. În ultima vreme au luat extindere cercetările pentru obținerea de forme triploide la plantele forestiere, deoarece triploizii manifestă un heterozis puternic și înmulțirea lor se poate face pe cale vegetativă.

Numeroase soiuri autopoliploide valoroase s-au realizat la plantele ornamentale și la legume. Poliploizii au flori mari, cu colo-

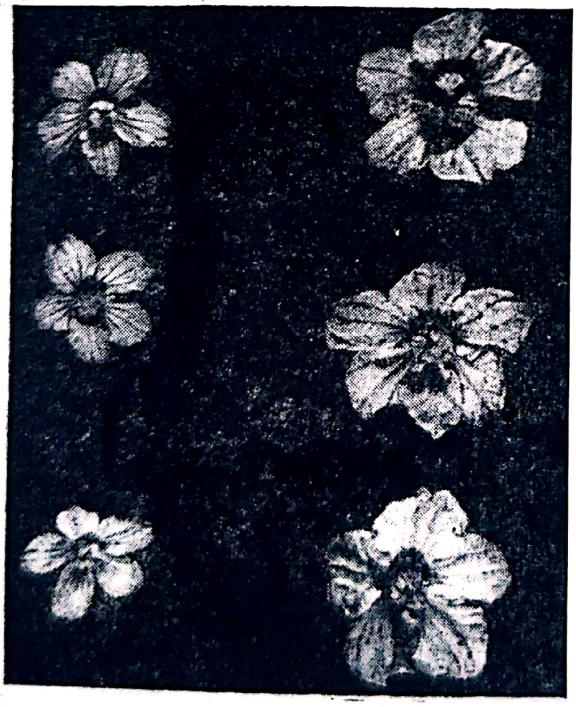


Fig. 133. Flori de *Citrullus vulgaris* diploid (stînga) și tetraploid (dreapta) (original).

Fig. 134. Metafaza la *Citrullus vulgaris* (tetraploid, 2 *n* = 44).

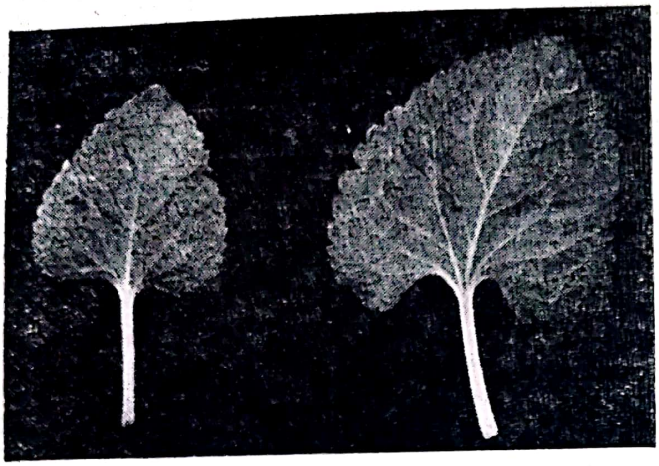


Fig. 135. Frunze de *Ageratum mexicanum* diploid (1) şi tetraploid (2) (original).

rit viu şi cu o durată mai lungă de înflorire, caractere ce le asigură o bună apreciere din punct de vedere economic. În laboratorul nostru (P. Raicu, D. Duma şi V. Olteanu 1966) s-au obţinut forme tetraploide interesante la *Antirrhinum majus, Ageratum mexicanum* şi *Capsicum annuum.*

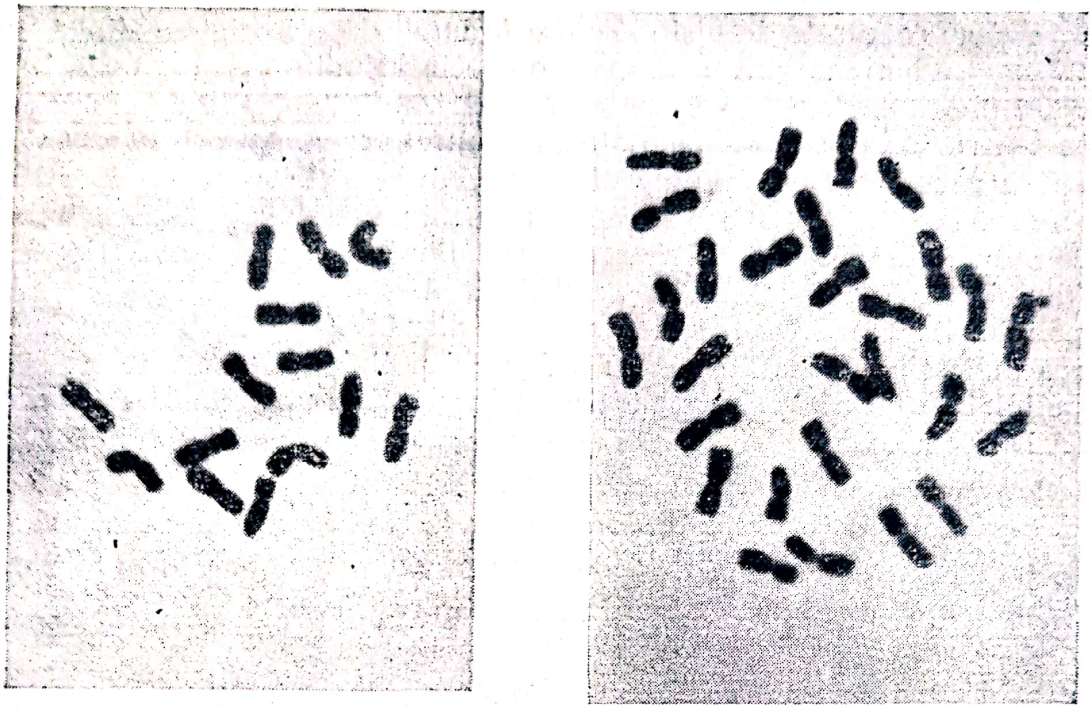
La animale nu s-au obţinut decît relativ puţini autopoliploizi artificiali, care au mai mult valoare ştiinţifică. Printre speciile la care s-au indus artificial triploizi sau tetraploizi pot fi citate : *Triturus viridescens, Amoeba sphaeronucleus, Drosophila melanogaster* şi *Bombyx mori.* Dintre acestea, numai poliploizii obţinuţi la ultima specie citată au oarecare valoare economică.

## PSEUDOPOLIPLOIDIA

*Pseudopoliploidia* este fenomenul prin care are loc o multiplicare a numărului de garnituri de cromozomi, fără ca acesta să antreneze o mărire corespunzătoare a cantităţii de A D N. După cum se ştie, la poliploizii adevăraţi o dată cu multiplicarea genomurilor se măreşte corespunzător cantitatea de A D N. Denumirea de pseudopoliploidie a fost dată de E. Bataglia în 1956, pe baza unor cercetări anterioare privind acest fenomen la plante şi animale.

Fenomenul pseudopoliploidiei a fost observat la diferite specii la care cromozomii au *centromeri difuzi sau multipli.* În acest caz, fragmentarea cromozomilor nu este urmată de o resorbţie a fragmentelor lipsite de centromer în citoplasmă, ci ele devin cromozomi independenţi.

Scanned with OKEN Scanner



a) b)

Fig. 136. Metafaza la *Hordeum sativum* diploid (2 $n$ = 14) — stînga, și tetraploid (2 $n$ = 28) — dreapta (original).

În 1947 N. Malheiros, D. de Castro și A. Camara au denumit multiplicarea numărului de genomuri formate din cromozomi cu centromeri difuzi *agmatoploidie*. Ei au studiat acest fenomen la genul de plante *Luzula* la care există specii cu număr variat de cromozomi, cum sînt : *L. purpurea* (2 $n$ = 6), *L. glabrata* (2 $n$ = 12), *L. campestris* (2 $n$ = 12), *L. spadica* (2 $n$ = 12), *L. parviflora* (2 $n$ = 24), *L. multiflora* (2 $n$ = 24), *L. sudetica* (2 $n$ = 48). Prin încrucișări interspecifice în cadrul genului, ei au determinat precis omologia cromozomilor. Astfel, prin încrucișarea *L. sudetica* (2 $n$ = 48) cu cromozomii mici cu *L. campestris* (2 $n$ = 12) cu cromozomi mari apar în diviziunile somatice ale plantelor din $F_1$ celule cu 2 $n$ = 30 din care 6 cromozomi mari și 24 mici. În meioza plantelor din $F_1$, cei 24 cromozomi mici de la *L. sudetica* se împerechează cu cei 6 mari de la *L. campestris*, formînd 6 cromozomi mari. În acest fel s-a determinat precis omologia existentă între cromozomii mari și cei mici de la cele două specii.

Pseudopoliploidia a mai fost observată la alte genuri de plante, cum sînt *Carex, Elocharis*, algele *Spirogyra* etc., iar la animale la nematozii din genul Ascaris, la hemipterele din genul *Thyanta* etc. De pildă, specia *Thyanta calceata* are un număr dublu de cromozomi față de celelalte specii ale aceluiași gen, însă cromozomii săi sînt mai mici. La fel s-a

constatat că șoarecele de nisip *(Tatera brantsii draco)* originar din Africa are 2 $n = 36$ cromozomi în timp ce o specie înrudită originară din India *(Tatera indica ceylonica)* are 2 $n = 72$, mărire a numărului de cromozomi care s-a realizat prin fragmentație. De altfel trebuie precizat că în general la pseudopoliploizi numărul cromozomilor este invers proporțional cu mărimea lor. Pentru a identifica prezența pseudopoliploidiei, trebuie determinată lungimea totală a cromozomilor, care trebuie să fie egală la diploizi și pseudopoliploizi. Teoretic însă este posibilă apariția pseudopoliploizilor și prin fragmentarea longitudinală a cromozomilor, de aceea indicații mai sigure pentru a deosebi poliploizii adevărați de pseudopoliploizi se obțin prin analiza citofometrică în ultraviolet a cantității de A D N din celulă.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL XII

# ANEUPLOIDIA, ENDOPLOIDIA, MONOPLOIDIA ŞI CROMOZOMII-B

În timp ce *euploidia* reprezintă variaţii ale numărului de genomuri (mutaţii genomice), la plante şi animale se observă şi alte variaţii ale numărului de cromozomi, din care cele mai importante sînt : *aneuploidia, pseudoaneuploidia, endoploidia, monoploidia* şi *cromozomii-B.*

## ANEUPLOIDIA ŞI PSEUDOANEUPLOIDIA

*Aneuploidia* sau *polisomia* este fenomenul prin care în celulele somatice ale organismelor nu se află numărul de bază *(x)* de cromozomi multiplicat cu un număr întreg, ci unul sau mai mulţi cromozomi în plus *(hiperploidie)* sau în minus *(hipoploidie).* În funcţie de modul cum variază numărul de cromozomi somatici, organismele aneuploide au următoarele denumiri :

| | |
|---|---|
| monosomie | $2n - 1$ |
| nulisomie | $2n - 2$ |
| trisomie | $2n + 1$ |
| tetrasomie | $2n + 2$ |
| dublă monosomie | $2n - 1 - 1$ |
| dublă trisomie | $2n + 1 + 1$ |
| monosomie-trisomie | $2n - 1 + 1$ |

În cazul monosomiei şi trisomiei lipsesc sau sînt în plus cîte un cromozom, iar în cazul nulisomiei şi tetrasomiei sînt în minus sau în plus o pereche de cromozomi.

Scanned with OKEN Scanner

Dacă luăm ca exemplu un organism diploid sau disom (2 *n*), cu trei perechi de cromozomi notați convențional cu A B C, cele mai importante variații ale numărului de cromozomi datorate aneuploidiei sînt :

| | |
|---|---|
| disomie | 2 *n* = 6 = A A B B C C |
| monosomie | 2 *n* = 5 = A A B B C sau A A B C C sau A B B C C |
| nulisomie | 2 *n* = 4 = A A B B sau A A C C sau B B C C |
| trisomie | 2 *n* = 7 = A A B B C C C sau A A B B B C C sau A A A B B C C |
| tetrasomie | 2 *n* = 8 = A A B B C C C C sau A A B B B B C C sau A A A A B B C C |
| dublă monosomie | 2 *n* = 4 = A A B C sau A B B C sau A B C C |
| dublă trisomie | 2 *n* = 8 = A A B B B C C C sau A A A B B C C C sau A A A B B B C C etc. |

Fenomenul aneuploidiei poate apărea la organisme pe mai multe căi :

*1.* — În primul rînd aneuploidia se poate manifesta în descendența organismelor poliploide create relativ recent la care se formează în meioză numeroși tetravalenți, trivalenți și univalenți, astfel că separarea cromozomilor în gameți se realizează inegal. De pildă, cercetările lui A. Müntzing (1951) la 808 plante autotetraploide de secară *(Secale cereale)* au arătat că numai 77,23% au fost disomice (2 *n* = 28), iar 13,12% au fost trisomice (2 *n* = 29) și 7,43% monosomice (2 *n* = 27). După cum se vede, frecvența aneuploizilor este destul de mare.

Un fenomen similar s-a constatat și la orz, prin autofecundarea triploizilor sau din încrucișarea triploizilor cu diploizi, după cum a constatat T. Tsuchiya în 1960 :

| Numărul de cromozomi somatici (2 *n*) | Frecvența plantelor, în % | |
|---|---|---|
| | Autopolenizarea triploizilor (3 *n*) | Încrucișarea 3 *n* × 2 *n* % |
| 14 | 20,8 | 30,0 |
| 15 | 44,8 | 53,3 |
| 16 | 19,8 | 10,0 |
| 17 | 5,2 | 3,3 |
| 18 | 1,0 | — |
| 21 | 1,0 | — |
| 25 | 1,0 | — |
| Total | 93,6% | 96,6% |

După cum reiese din datele tabelului, majoritatea descendenților prezentau fenomenul aneuploidiei și numai la relativ puține plante (20,8%

în primul caz și 30,0% în cel de-al doilea) aveau un număr de cromozomi normal pentru specia respectivă ($2n = 14$).

2. — În al doilea rînd, aneuploidia apare în descendența organismelor diploide datorită fenomenului de *nondisjuncție* a cromozomilor în meioză sau în mitoză, care duce la apariția de gameți sau celule diploide cu un număr diferit de normal al cromozomilor.

3. — În al treilea rînd, aneuploidia apare la *mutantele asinaptice* ale unor organisme, la care nu se formează normal bivalenți în meioză datorită ineficienței împerecherii cromozomilor. Astfel de mutante *asinaptice* s-au semnalat la diferite plante, cum sînt: *Secale cereale, Hordeum vulgare, Pisum sativum, Nicotiana tabacum, N. sylvestris, Datura stramonium, Lycopersicum esculentum* etc. La tomate, R. K. Soost (1951) a studiat meioza la două plante ale unei mutante asinaptice din soiul San Marzano, constatînd că în loc de 12 bivalenți

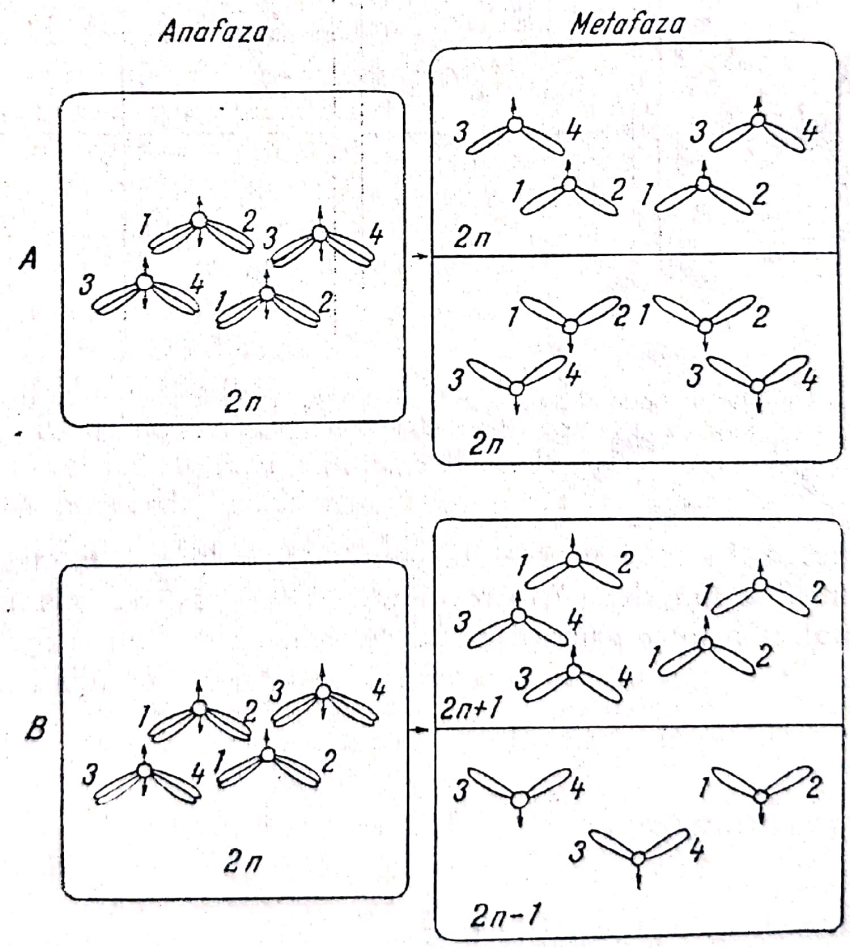



Fig. 137. Disjuncția normală a cromozomilor în mitoză (A) și nondisjuncția care duce la formarea de celule aneuploide (B) (după Rieger, 1963).

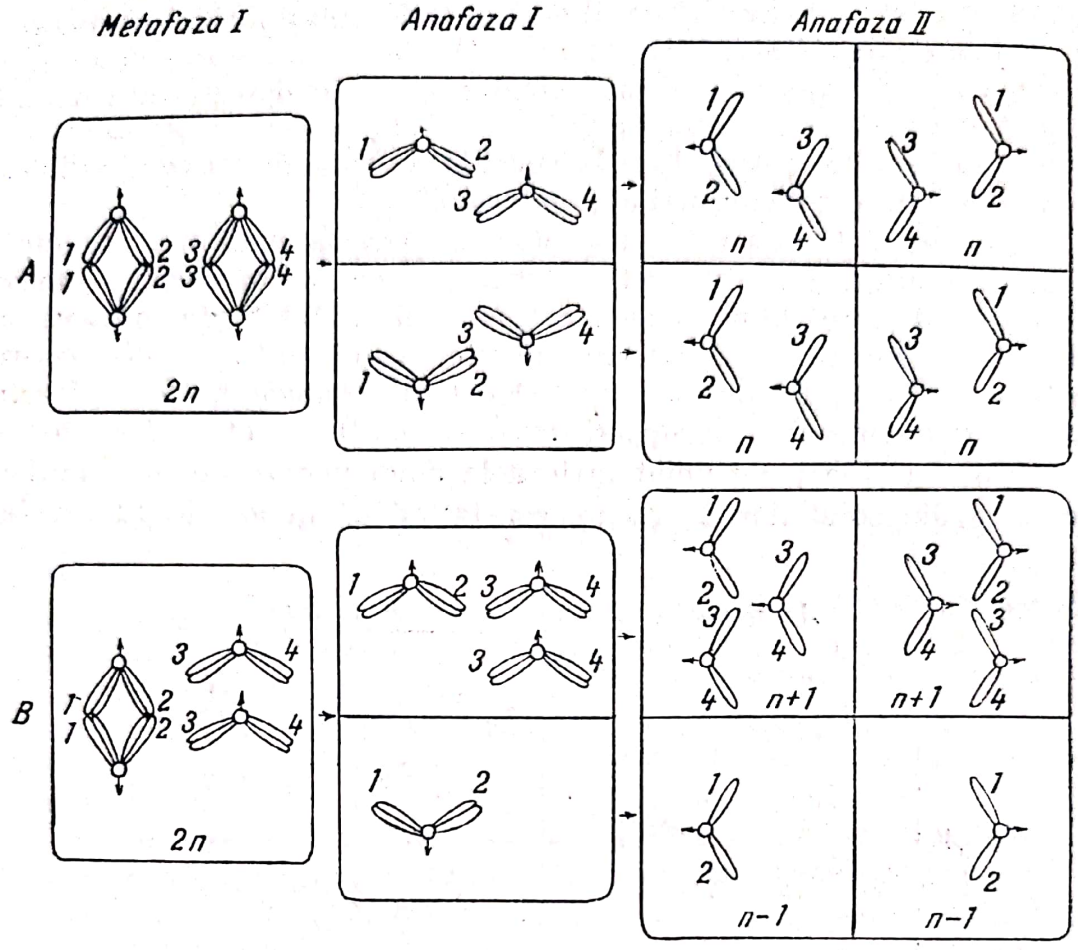



Fig. 138. Disjuncția normală a cromozomilor în meioză (A) și nondisjuncția lor (B) care duce la formarea de gameți cu număr inegal de cromozomi (după Rieger, 1963).

cît se formează în mod normal la acest soi, la prima plantă se aflau 5,09 bivalenți, iar la a doua 7,73 bivalenți. În acest fel s-a pus în evidență experimental că printre gameții mutantei respective o bună parte au cromozomi în plus sau în minus, care duc la apariția de aneuploizi.

## TRISOMIA ȘI TETRASOMIA

La animale și în special la plante s-au făcut studii intense privind aneuploizii de tip trisomic și tetrasomic. Printre speciile studiate pot fi citate : *Drosophila melanogaster, Triticum aestivum, Zea mays, Lycopersicum esculentum, Datura stramonium, Nicotiana tabacum* etc.

Scanned with OKEN Scanner

La *Datura stramonium* ($2n = 24$) se află un număr de 12 perechi de cromozomi care se pot relativ uşor identifica morfòlogic după mărime, prezenţa sateliţilor etc. A. F. Blakeslee (1938) a reuşit să obţină experimental cele 12 tipuri de trisomici ($2n = 25$), care se pot recunoaşte după habitus şi în special după forma capsulei. În general plantele trisomice au o vitalitate şi o fertilitate ceva mai redusă decît a celor disomice normale. Pentru a obţine organisme trisomice, se fac autofecundări la plantele triploide sau în cazul animalelor se încrucişează un diploid cu un triploid.

Prezenţa unui cromozom în plus determină formarea în procesul de diviziune meiotică a unui trivalent, datorită conjugării celor trei cromozomi omologi. Din această cauză, în anafaza I doi dintre ei merg la un pol al celulei, iar celălalt la polul opus. Ca urmare se formează gameţi masculi şi femeli cu 12 ($n$) şi 13 ($n + 1$) cromozomi, dintre care mai ales cei masculi cu $n + 1$ cromozomi sînt sterili. Pentru a studia viabilitatea gameţilor se fac încrucişări între plante trisomice ($2n + 1$) şi disomice ($2n$) şi se determină în descendenţă proporţia de plante $2n + 1$, care teoretic ar trebui să fie de 50%, însă din cauza sterilităţii parţiale a gameţilor este întotdeauna mai mică. Astfel, la trisomicul Globe proporţia de descendenţi $2n + 1$ este de 29,0%, la trisomicul Poinsettia este 27,7%, la trisomicul Ilex este 32,0%, iar la trisomicul Elongata este 10,8%. Determinări de acelaşi gen s-au făcut de către C. M. Rick şi D. W. Barton (1954) la tomate, iar rezultatele — prezentate în tabelul următor — arată că proporţia descendenţei trisomice variază între 0,44% şi 24,7%.

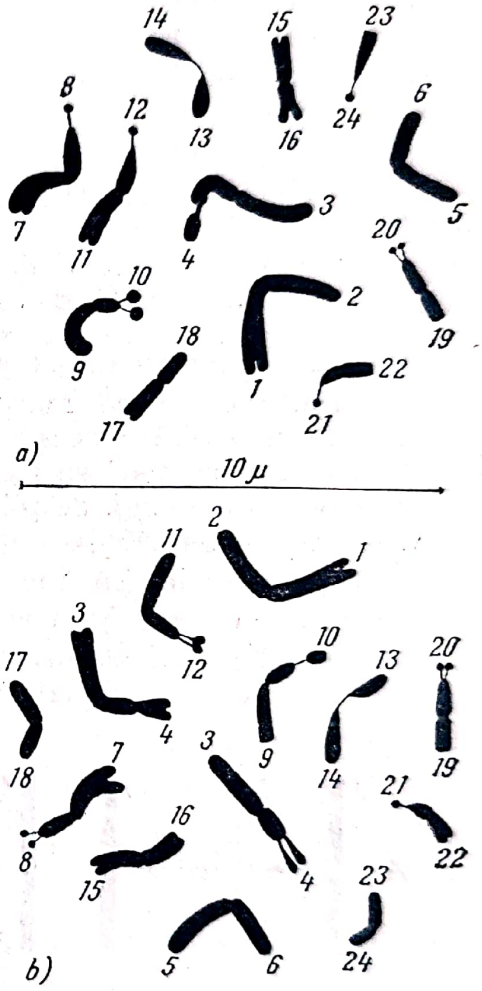



Fig. 139. Cromozomi din garnitura haploidă de *Datura stramonium* (sus) şi ale trisomicului $2n + 3.4$ (jos) (după Satina, 1959).

| Trisomicii | Descendența din încrucișarea (2 n+1) ♀ × 2 n ♂ | | Procentul de plante trisomice |
|---|---|---|---|
| | 2 n | 2 n + 1 | |
| triplo — 1 | 419 | 20 | 4,6 |
| triplo — 3 | 654 | 7 | 1,1 |
| triplo — 4 | 234 | 77 | 24,7 |
| triplo — 6 | 223 | 1 | 0,44 |
| triplo — 7 | 505 | 88 | 14,8 |
| triplo — 12 | 401 | 75 | 15,7 |

Trisomia poate fi de mai multe tipuri. De pildă, în cazul cînd un cromozom din cei 12 de la *Datura stramonium* nu se află sub formă de pereche, ci în triplu exemplar, fenomenul se cheamă *trisomie primară.* În total există 12 tipuri de trisomici primari, cele 12 tipuri de perechi de cromozomi fiind marcate în felul următor : 1—2, 3—4, 5—6, ..... 23—24, una dintre aceste perechi avînd un cromozom în plus. Pe baza trisomicilor primari se formează *trisomicii secundari,* care au numai doi cromozomi omologi, de pildă 1—2, 1—2, iar al treilea 1—1 sau 2—2 care are brațe egale. Ei se pot forma printr-o diviziune greșită a centromerului, care în loc să ducă la separarea longitudinală a cromatidelor determină separarea lor transversală. Pentru fiecare trisomic primar există cîte doi trisomici secundari, astfel că numărul lor la *Datura stramonium* este de 24, care parțial au fost identificați după habitus și după studiul citologic, cei trei cromozomi avînd posibilitatea să formeze prin unirea capetelor omologe ale cromozomilor un inel închis (1—2 ; 2—2 ; 2—1 sau 2—1 ; 1—1 ; 1—2), fapt imposibil pentru trisomicii primari (1—2 ; 1—2 ; 1—2).

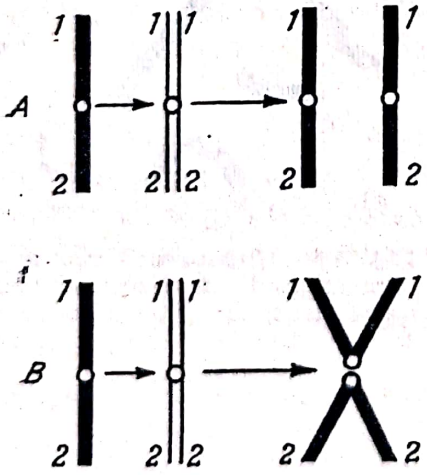



Fig. 140. Clivarea normală longitudinală a cromozomului (A) și clivarea transversală care duce la apariția trisomicilor (B).

În sfîrșit există și *trisomici terțiari,* formați pe baza celor secundari, la care a avut loc fenomenul translocației unui braț al cromozomului liber de la trisomicii secundari. Ca urmare, acest cromozom are brațe inegale. Referindu-ne la exemplul de mai sus, există cîte 11 trisomici terțiari pentru fiecare trisomic secundar, ca, de pildă, 1—2 ; 1—2 ; 1—3 ; sau 1—2 ; 1—2 ; 1—4 sau . . . . . 1—2 ; 1—2 ; 1—24. În total există deci 264 (24 × 11) trisomici terțiari, din care o parte au fost identificați morfologic după habitusul plantelor și după studiul cito-

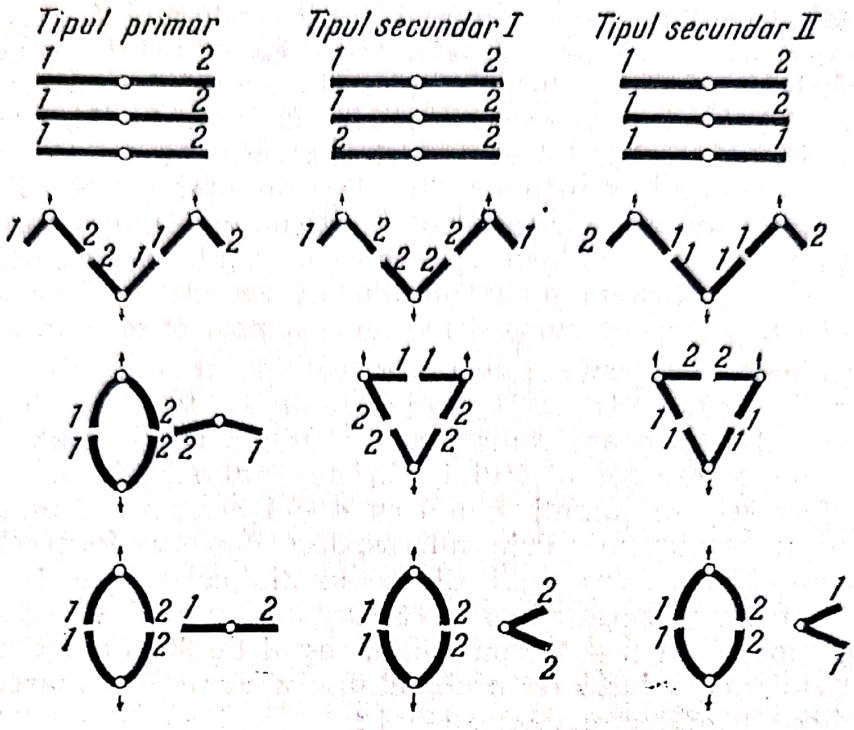



Fig. 141. Diferite tipuri de asociere a celor 3 cromozomi omologi la trisomicii primari şi secundari (după Rieger, 1963).

logic prin aceea că în meioză se formează un pentavalent din trei cromozomi omologi plus perechea de cromozomi cu care s-a realizat translocaţia.

*Tetrasomia,* adică prezenţa unei perechi de cromozomi în plus ($2n + 2$) poate apărea în mod spontan la plante şi animale în urma unei diviziuni meiotice anormale sau pe cale artificială prin autofecundarea sau încrucişarea organismelor trisomice. Prin unirea în procesul fecundaţiei a doi gameţi cu $n + 1$ cromozomi se formează un organism tetrasomic ($2n + 2$). Cercetări mai ample privind tetrasomia s-au efectuat de către E. R. Sears (1959) la *Triticum aestivum* ($2n = 42$), care a reuşit să obţină o serie completă de 21 tetrasomici care se deosebesc nu numai citologic, ci şi după habitusul plantelor. Din punct de vedere citologic, organismele tetrasomice se pot recunoaşte prin studiul meiozei, deoarece cei patru cromozomi omologi formează un tetravalent.

## MONOSOMIA ŞI NULISOMIA

Fenomenul absenţei unui cromozom sau a unei perechi de cromozomi a fost studiat atît la plante cît şi la animale.

Primele cercetări mai ample în această direcţie aparţin lui R. E. Clausen (1941), care a reuşit să identifice la specia tetraploidă

*Nicotiana tabacum* ($2n = 48$) un număr de 20 din totalul de 24 monosomi ($2n = 47$), deosebiți citologic și după habitus. La grîu (*Triticum aestivum*, $2n = 42$) E. R. Sears (1959) a obținut seria completă de 21 monosomici și 21 nulisomici. În ceea ce privește modul lor de apariție, prezența lor poate fi remarcată accidental în natură mai ales la poliploizi. Experimental ei pot fi produși prin studiul descendenței poliploizilor recent creați și prin hibridarea interspecifică, cînd conjugarea cromozomilor nu se face normal în meioză, încît apar univalenți, trivalenți, tetravalenți etc., astfel că repartizarea cromozomilor în gameți se face neregulat. Pe această bază pot apărea organisme monosomice și nulisomice.

O problemă interesantă este păstrarea tipului respectiv monosomic sau nulisomic în descendență. De exemplu, la *Triticum aestivum* monosomicii ($2n = 41$) formează gameți cu $n$ și $n-1$ cromozomi. În ceea ce privește megasporogeneza alcătuită din două diviziuni succesive, probabilitatea formării de gameți femeli cu $n-1$ cromozomi este de 75%, restul avînd $n$ cromozomi. Prin microsporogeneză se formează gameți masculi cu $n-1$ și $n$ cromozomi. Dintre aceștia, cei cu $n-1$ cromozomi sînt în mare măsură nefuncționali. Ca urmare, numai 4% din gameții masculi funcționali au $n-1$ cromozomi, restul de 96% avînd 21 cromozomi. Prin unirea pe bază de probabilitate a gameților masculi cu cei femeli se obține următoarea descendență :

| ♀ \ ♂ | $n = 21$ 96% | $n = 20$ 4% |
|---|---|---|
| $n = 21$ 25% | $2n = 42$ disomie 24% | $2n = 41$ monosomie 1% |
| $n = 20$ 75% | $2n = 41$ monosomie 72% | $2n = 40$ nulisomie 3% |

Autofecundarea monosomicilor la grîu duce la formarea a 73% monosomici, 3% nulisomici și 24% disomici. Se poate astfel constata că monosomicii segregă în fiecare generație plante de trei tipuri, care nu pot fi precis identificate decît citologic. În ce privește plantele nulisomice, prin autofecundare ele dau naștere exclusiv la descendenți nulisomici, numai că nu întotdeauna este posibilă reproducerea nulisomicilor.

Deși organismele aneuploide nu prezintă importanță economică directă ca în cazul poliploidiei, totuși cercetările în această direcție au luat o mare amploare mai ales datorită însemnătății lor pentru procesul de ameliorare. Pe baza studiului aneuploizilor s-au făcut cercetări interesante privind corelația dintre anumite caractere și însușiri ale organismelor și prezența-absența anumitor cromozomi. Astfel E. R. Sears (1953) a arătat că la soiul de grîu Chinese Spring absența perechii XVI de cromozomi la nulisomicul respectiv determină apariția culorii albe

a boabelor, în timp ce toţi ceilalţi 20 de nulisomici au boabe de culoare roşie. De asemenea, nulisomicii VIII şi X au ariste foarte mari, ceea ce înseamnă că între prezenţa cromozomilor VIII şi X şi creşterea aristelor există o strînsă corelaţie. Pornind de la aceste observaţii, s-a ajuns la concluzia că este posibilă folosirea aneuploizilor pentru adiţia sau substituţia unui cromozom sau a unei perechi de cromozomi la o specie cu cromozomi de la o altă specie. J. Lejeune, M. Gautier şi R. Turpin (1959) au pus în evidenţă că *mongolismul (sindromul Down)* o maladie umană foarte gravă, este corelată cu prezenţa unui cromozom în plus ($2n = 47$), adică cu fenomenul trisomiei pentru cromozomul 21. Ulterior au fost descoperite mai multe tipuri de aneuploizi, dintre care cele mai cunoscute sînt *sindromul Klinefelter* ($2n = 47$) la bărbaţi la care există trei cromozomi sexuali X X Y şi *sindromul Turner* ($2n = 45$) la femei la care nu există decît un cromozom sexual X.

Referitor la viabilitatea şi vitalitatea aneuploizilor se constată în general că ele sînt mai reduse decît la organismele normale. Trebuie însă semnalat că aceste fenomene sînt corelate cu gradul de poliploidie al organismelor respective. Astfel la *Triticum aestivum* ($2n = 42$) care este o specie hexaploidă s-a reuşit obţinerea unor serii complete de 21 nulisomici ($2n = 40$), 21 monosomici ($2n = 41$), 21 trisomici ($2n = 43$) şi 21 tetrasomici ($2n = 44$) viabili, în timp ce la organismele cu un grad redus de poliploidie, de pildă la *Drosophila melanogaster* ($2n = 8$), specie diploidă, nu sînt viabili decît o parte din aneuploizi.

## PSEUDOANEUPLOIDIA

*Pseudoaneuploidia* este fenomenul prin care variaţia numărului de cromozomi specifică aneuploidiei se realizează pe alte căi, decît mecanismele expuse mai sus. Astfel este vorba de *translocaţia reciprocă,* prin care se realizează schimbul parţial al unor fragmente de cromozomi şi

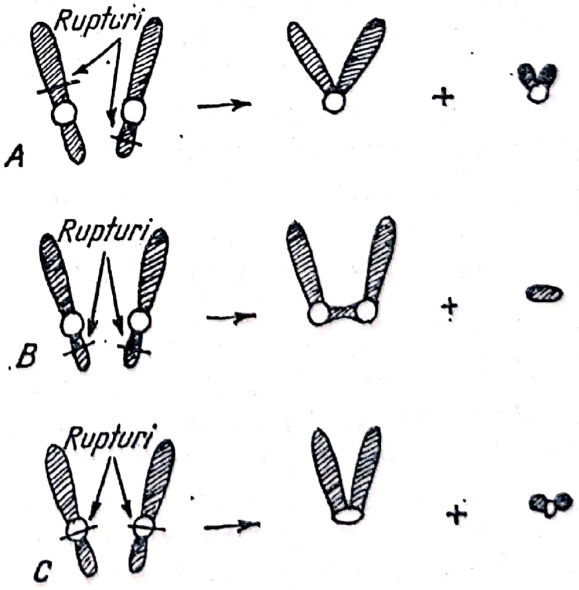



Fig. 142. Trei tipuri (A, B, C) de fuzionare a centromerilor care duc la apariţia pseudoaneuploidiei.

*fuzionarea centromerilor*, prin care din două perechi de cromozomi se poate forma una singură cu centromeri dubli. În natură se cunosc mai multe exemple atît la plante cît și la animale de modificare a numărului de cromozomi prin pseudoaneuploidie.

H. A. Togby (1943) a studiat citologic genul de plante *Crepis*, constatînd că specia *C. fuliginosa* (2 $n$=6) *și cu cromozomii* $A_F B_F D_F$ provine prin translocație reciprocă din specia *C. neglecta* (2 $n = 8$) cu cromozomii $A_N B_N C_N D_N$. Studiul diviziunii meiotice la hibrizii din $F_1$ *C. fuliginosa* x *C. neglecta* a arătat că un fragment din cromozomul $C_N$ a fost translocat la cromozomul $B_F$, iar restul cromozomului $C_N$ lipsit de centromer s-a dizolvat în citoplasmă. În acest fel a apărut o specie nouă, nulisomică, și anume *C. fuliginosa*.

La genul de insecte *Drosophila* s-a arătat, de asemenea, că genotipul primar de la *D. virilis* (2 $n = 12$) s-a transformat prin *translocație și fuzionarea centromerilor* la speciile : *D. texana* (2 $n = 10$), *D. americana* (2 $n = 10$), și *D. littoralis* (2 $n = 10$). La *D. texana* a avut loc un proces de fuzionare a perechilor 2 și 3 de cromozomi, la *D. littoralis* au fuzionat perechile 3 și 4, iar la *D. americana* pe lîngă fuzionarea perechilor de cromozomi 2 și 3 a mai avut loc și o fuzionare între cromozomul X și 4.

În sfîrșit s-a arătat că prin unirea a doi cromozomi în formă de I poate apărea unul în formă de V. Astfel, după datele lui C. D. Darlington (1937), numărul de bază la genul de plante *Fritillaria* este $n = 13$, ca, de pildă, la *F. pudica* ce are 12 cromozomi în formă de I acrocentrici și unul în formă de V metacentric. La *F. imperialis* ($n = 12$) există numai 10 cromozomi în formă de I și doi cromozomi în formă de V, astfel că se poate presupune că unul dintre cromozomii V a luat naștere prin fuzionarea centromerilor a doi cromozomi acrocentrici în formă de I. În acest gen există și o specie cu $n = 9$, și anume *F. ruthenica*, care are numai 4 cromozomi în formă de I și 5 cromozomi în formă de V, astfel că și aici se presupune că opt cromozomi I s-au alipit, formînd patru cromozomi V.

În genul de plante *Lycoris* s-a observat de către *C. D. Darlington* un fenomen similar, după cum reiese din datele tabelului de mai jos :

| Speciile | $n$ | Numărul de cromozomi în forma literei | |
|---|---|---|---|
| | | V | I |
| *L. sanguinea* | 11 | — | 11 |
| *L. straminea* | 8 | 3 | 5 |
| *L. aurea* (Taivan) | 7 | 4 | 3 |
| *L. aurea* (Japonia) | 6 | 5 | 1 |

Exemplele privind pseudoaneuploidia ar putea fi multiplicate.

Studiul citogenetic al genului de rozătoare *Mesocricetus* a dus la concluzia că speciile *M. newtoni* (2 $n = 38$) și *M. brandti* (2 $n = 42$), pro-

vin pe o cale similară din specia *M. auratus* (2 $n = 44$) care se pare că are o origine mai veche. În concluzie se poate sublinia faptul că pseudoaneuploidia a avut un rol relativ însemnat în procesul de evoluţie al plantelor şi animalelor, ducînd la apariţia de specii noi, cu cariotip şi număr de cromozomi modificat, precum şi cu habitus deosebit.

## ENDOPLOIDIA

Fenomenul endoploidiei, cunoscut atît la plante cît şi la animale, constă într-o mărire a numărului de cromozomi, în anumite ţesuturi ale organismului respectiv.

La spanac *(Spinacea oleracea),* numărul de cromozomi somatici este de 12, însă în rădăcini se pot întîlni celule cu 2 $n = 24, 48, 96$ cromozomi. De asemenea, la unele specii de *Ranunculaceae, Papaveraceae* şi *Compositae* s-a observat că celulele antipode din sacul embrionar sînt foarte mari şi au pînă la 32 ori mai multe garnituri de cromozomi decît normal.

Fenomenul endoploidiei este comun şi la numeroase specii de animale. Încă din 1937 citologul austriac L. Geitler studiind insectele acvatice *Gerris lateralis* şi *G. lacustris* a constatat că unele celule ale ţesutului ovarian sînt 512 — ploide, 1 024 — ploide şi chiar 2 048 — ploide. Punerea în evidenţă a unui număr aşa de mare de genomuri a fost posibilă datorită faptului că la această insectă cromozomii sexului de tip X sînt heterocromatici şi pot fi observaţi în interfază. Endoploidia a fost pusă în evidenţă şi în intestinul mijlociu al larvelor de ţînţari la care normal 2 $n = 6$, însă în celulele foarte mari ale ţesutului intestinal se pot întîlni celule cu 2 $n = 12, 24, 48, 96$ cromozomi, precum şi în ţesutul rectului de la *Drosophila melanogaster* unde s-a observat prezenţa de celule octoploide (2 $n = 32$). La mamifere, acest fenomen poate fi, de asemenea, întîlnit în anumite celule ale unor ţesuturi. De pildă, în ficatul şoarecelui *(Mus musculus)* numai 55% din celule sînt diploide (2 $n = 40$), 40% celule sînt tetraploide (2 $n = 80$) şi 5% sînt octoploide (2 $n = 160$). În tumorile maligne ale omului şi altor animale se pot observa, ca şi în culturile de ţesuturi, celule cu un grad diferit de poliploidie.

Apariţia endoploidiei se datoreşte unor diviziuni celulare speciale, denumite *endomitoze,* care au loc foarte repede, astfel că clivajul cromozomilor nu este urmat şi de formarea unei membrane între celula-mamă şi celula-fiică. Ca urmare creşte numărul de garnituri de cromozomi în aceeaşi celulă. Fenomenul endoploidiei nu apare decît în ţesuturile diferenţiate, în tumori sau în culturi de ţesuturi în care pot avea loc endomitoze.

Scanned with OKEN Scanner

## MONOPLOIDIA

În natură, fenomenul monoploidiei sau haploidiei, adică existența unei singure garnituri de cromozomi în celulele somatice, se observă la unele insecte, cum sînt albina și viespea dintre himenoptere, precum și în faza de gametofit a plantelor diploide. La organismele normal haploide, cum sînt masculii (trîntorii) de la albină, meioza este modificată, încît nu are loc o diviziune de reducere cromozomială, numărul de cromozomi al spermatozoizilor fiind egal cu al celulelor somatice.

Monoploidia se observă însă în natură cu o frecvență redusă la unele specii vegetale sau animale normal diploide, astfel că apar organisme anormale ce au în celulele somatice un număr haploid de cromozomi. Iată după R. Rieger (1963) frecvența cu care apar monoploizii la cîteva specii de plante : *Gossypium barbadense* 0,025—0,037%, *Datura stramonium* 0,018%, *Zea mays* 0,05%, *Antirrhinum majus* 0,01%, *Triticum monococcum* 0,5%, *T. aestivum* 0,025% etc. Cauza apariției monoploizilor în natură nu este bine cunoscută, însă în general se consideră că se datorește *partenogenezei* — dezvoltarea organismului dintr-o oosferă sau ovulă nefecundată — sau *pseudogamiei* — dezvoltarea organismului dintr-o altă celulă haploidă a sacului embrionar al plantelor. De asemenea, pe lîngă *ginogeneză,* dezvoltarea organismelor dintr-o celulă sexuală haploidă femelă, monoploidia poate apărea și prin *androgeneză,* dezvoltarea organismului dintr-o celulă sexuală masculă. De pildă, la *Solanum nigrum* s-a observat apariția de plante monoploide prin ginogeneză, iar la *Capsicum frutescens* și hibrizii *Nicotiana tabacum* x *N. langsdorfii, Datura stramonium* x *D. ferox* prin androgeneză. Desigur că o astfel de dezvoltare anormală care duce la apariția haploizilor este determinată de modificări ale condițiilor de mediu ce împiedică fecundația normală.

Atît la plantele cît și la animalele normal diploide, apariția haploidiei este corelată cu reducerea volumului nucleului și respectiv a întregii celule, fapt care determină o talie mai redusă a organismelor (nanism) și o vitalitate slabă, astfel că ele pot fi relativ ușor identificate. Din cauză că numărul de cromozomi este haploid, diviziunea de reducere cromozomială (meioza) se desfășoară anormal : cromozomii migrează inegal spre polii celulei, iar unii dintre ei rămîn în citoplasmă, nefiind incluși în celulele sexuale. Ca urmare, organismele haploide sînt total sau aproape total sterile. Există însă posibilitatea formării unui număr redus de gameți haploizi normali, formați fără diviziunea de reducere cromozomială, prin a căror fecundare se restabilește numărul diploid de cromozomi, tipic pentru specia respectivă.

La plantele alogame fenomenul haploidiei este corelat cu o reducere mult mai accentuată a taliei și a vitalității decît la cele autogame. Aceasta din cauză că la plantele alogame unde există cromozomi variați în genomuri existența unei singure garnituri de cromozomi la monoploizi

determină manifestarea caracterelor negative, în timp ce la diploizi aceste caractere se află în stare recesivă. La plantele autogame cele două garnituri de cromozomi sînt mult mai uniforme şi ca urmare lipsa unei garnituri la organismele monoploide nu are consecinţe prea mari.

La organismele cu un grad mai mare de poliploidie, apariţia monoploizilor nu este corelată întotdeauna cu o sterilitate prea accentuată. Aceasta deoarece la haploizii care conţin mai multe genomuri există posibilitatea ca ei să fie total sau parţial omologi, astfel că cromozomii pot forma bivalenţi în meioză şi ca urmare separarea lor în urma diviziunii de reducere cromozomială se realizează balansat, în număr egal, iar gameţii sînt funcţionali.

Deşi organismele monoploide au un habitus mai redus şi o vitalitate mai slabă ca a celor diploide, ele prezintă importanţă practică, făcînd posibilă obţinerea de linii pure mult mai rapid. Prin dublarea numărului de cromozomi ai unui organism monoploid, de pildă cu ajutorul colchicinei, se poate obţine o linie pură homozigotă, care are importanţă în procesul de ameliorare al plantelor. Încă în anul 1952 S. S. Chase a arătat posibilitatea folosirii monoploizilor la porumb pentru crearea rapidă de linii pure, ulterior fenomenul fiind studiat în acelaşi scop şi la alte specii de plante cultivate.

Ţinînd seama de importanţa acestor organisme, s-au elaborat mai multe *metode de inducere artificială a monoploizilor* atît la plante cît şi la animale. Printre metodele folosite în acest scop la plante pot fi citate (după A. Müntzing, 1961) :

*Îndepărtarea staminelor* florilor împiedică polenizarea normală, fapt care determină ca un procent redus de oosfere sau alte celule haploide din sacul embrionar să înceapă să se dividă şi să formeze embrioni, fără fecundare prealabilă. Cercetările lui H. Kihara (1941) la *Triticum monococcum* au arătat că se pot obţine prin această metodă pînă la 37,5% embrioni monoploizi.

*Iradierea polenului* cu radiaţii ionizante şi folosirea sa pentru polenizare determină formarea de embrioni haploizi din oosfere nefecundate. La *Triticum monococcum* prin folosirea acestei metode se obţin pînă la 20% monoploizi în descendenţă.

*Polenul străin* aparţinînd unei alte specii, folosit pentru polenizare, determină, de asemenea, dezvoltarea prin ginogeneză a unor plante monoploide. C. A. Joergensen (1928) a polenizat flori de *Solanum nigrum* cu polen de la *S. luteum* şi a reuşit să obţină plante monoploide de *S. nigrum* provenite din oosfere nefecundate.

*Poliembrionia,* prin care se înţelege formarea a doi sau mai mulţi embrioni şi respectiv a două sau mai multe plante dintr-o singură sămînţă, duce, de asemenea, la apariţia de monoploizi. A. Müntzing (1961) a identificat dintr-un total de 2 201 plante aparţinînd la 16 specii, provenite prin poliembrionie, un număr de 77 triploizi şi 11 monoploizi. În felul acesta, aproximativ 4% din totalul plantelor provenite prin poliembrionie s-au dovedit a fi monoploide.



Scanned with OKEN Scanner

La animale există, de asemenea, metode pentru inducerea monoploidiei, cum sînt: *tratamente cu temperaturi scăzute sau ridicate a ovulelor nefecundate, tratamente cu soluţii hipo sau hipertonice, cultura „in vitro" a ovulelor, iradierea spermatozoizilor cu radiaţii ionizante sau neionizante* etc. În acest fel este posibilă dezvoltarea partogenetică a unor ovule şi apariţia de monoploizi. G. F a n k h a u s e r a obţinut încă în 1937 monoploizi la *Triton taenatus,* iar ulterior s-au realizat artificial astfel de organisme şi la alte specii.

## CROMOZOMII-B

În anul 1928, cercetătorul american L. F. R a n d o l p h a descoperit că în celulele unor plante de *Zea mays* există pe lîngă cei 20 de cromozomi normali, caracteristici speciei respective denumiţi *cromozomi-A,* un număr variabil cuprins între 0 şi 30 de cromozomi mai mici, care au primit numele de *cromozomi-B.* Plantele lipsite de cromozomi-B au un habitus normal, ca şi cele care au un număr redus de astfel de cromozomi. Numai în cazul cînd numărul cromozomilor-B în celule este mare, plantele au fertilitate şi vitalitate reduse. În general se consideră că cromozomii-B au o importanţă genetică mai redusă ca cei A.

Ulterior s-a descoperit existenţa cromozomilor-B la diferite specii de plante şi animale, ca, de pildă:

| **Plante** | **Animale** |
|---|---|
| *Secale cereale* | *Metapodius terminalis* |
| *Festuca pratensis* | *Polycelis tenuis* |
| *Phleum phleoides* | *Cimex lectularis* |
| *Trillium erectum* | *Locusta migratoria* |

Iată, după R. R i e g e r (1963), cum variază numărul de cromozomi-B la trei specii de plante:

| Speciile | Numărul de cromozomi — *B* | | | | | | | | | Numărul de plante cercetate | Numărul mediu de cromozomi *B* la o plantă |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | | |
| *Trillium erectum* | 193 | 34 | 6 | 2 | 2 | — | — | — | — | 237 | 0,25 |
| *Phleum phleoides* | 966 | 173 | 157 | 64 | 24 | 10 | 4 | 3 | 1 | 1 402 | 0,63 |
| *Festuca pratensis* | 854 | 97 | 68 | 8 | 11 | 3 | 3 | 2 | — | 1 046 | 0,33 |

La unele specii cromozomii-B sînt *heterocromatici,* ca, de pildă, la *Poa alpina,* astfel că pot fi puşi în evidenţă în interfază, la altele, ca, de

exemplu, la *Zea mays* — sînt *parţial heterocromatici* şi în sfîrşit la o a treia grupă din care face parte *Tradescantia* sînt exclusiv *eucromatici.*

Cercetări ample privind cromozomii-B la *Secale cereale* au fost efectuate la Institutul de Genetică din Lund (Suedia) de către A. M ü n t z i n g, care a reuşit să pună în evidenţă că unele populaţii originare din Coreea ale acestei plante au cromozomi-B la 90% din indivizi. Studiul meiozei a arătat că la cromozomii-B se observă în mare măsură fenomenul de non-disjuncţie, astfel că dacă într-o celulă există de pildă doi cromozomi-B, ei nu se separă pentru a merge la cei doi poli ai celulei, ci merg împreună la acelaşi pol, astfel că numărul lor în celule poate creşte la 4—8 etc. Existenţa unui număr mai mare de şase cromozomi-B la plantele de secară determină sterilitatea lor, iar mai mult de nouă cromozomi-B determină o lipsă totală de viabilitate a plantelor.

Fenomenul de non-disjuncţie la cromozomii-B a fost observat şi la *Zea mays* la care prezentăm după H. R o m a n (1947) rezultatele încrucişării între plante cu 0—2 cromozomi-B.

| Nr. de cromozomi — B | | Descendenţii cu un număr variabil de cromozomi — B | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ♀ | ♂ | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| 0 | 1 | 108 | 35 | 20 | 2 | — | 165 |
| 0 | 2 | 22 | — | 37 | — | 2 | 61 |
| 1 | 0 | 155 | 77 | 3 | — | — | 235 |
| 2 | 0 | 8 | 41 | 3 | — | — | 52 |

Din datele tabelului reiese că segregarea în descendenţă demonstrează foarte evident că la un număr mare de cromozomi-B are loc fenomenul de non-disjuncţie în procesul de diviziune celulară.

În ceea ce priveşte efectul genetic al prezenţei cromozomilor-B, el este în general foarte redus, astfel că ei pot fi consideraţi „subinerţi". Există însă şi unele excepţii, ca, de pildă, speciile de plante *Festuca pratensis* şi *Centaurea scobiosa* la care s-a constatat că prezenţa unui număr redus de cromozomi-B este corelat cu o vitalitate mai mare a plantelor.

În sfîrşit trebuie semnalat că la unele plante, ca, de pildă, *Poa alpina, Sorghum purpureo-sericeum* şi *Xanthisma,* cromozomii-B prin fenomenul de non-disjuncţie sînt eliminaţi din ţesuturile vegetative şi păstraţi exclusiv în ţesuturile sporogene pe baza cărora se formează sacul embrionar şi grăunciorii de polen. În mod similar la animale, ca, de exemplu, turbelariatul *Polycelis tenuis* cromozomii-B sînt eliminaţi din ţesuturile somatice şi reţinuţi în cel ovarian. Tot prin mecanismul de non-disjuncţie la unele specii de plante, ca *Anthoxanthum aristatum* şi

Scanned with OKEN Scanner

*Festuca pratensis*, se realizează mărirea numărului de cromozomi-B în gameţii masculi, iar la specii din genurile *Crepis* şi *Plantago* are loc mărirea numărului de cromozomi-B la gameţii femeli.

Deşi în ultimii ani s-au făcut cercetări relativ numeroase privind cromozomii-B atît la plante cît şi la animale, rolul lor biologic şi mai ales genetic n-a putut fi bine pus în evidenţă. În ceea ce priveşte originea lor există diferite ipoteze, însă în general se consideră că ei provin din cromozomii sexuali X şi Y printr-un proces de fragmentaţie, şi cu toate că sînt lipsiţi de centromer se conservă de-a lungul generaţiilor printr-un proces de clivare longitudinală. Neavînd însă un rol genetic important la ei se observă adesea fenomenul de non-disjuncţie care duce la apariţia de celule lipsite complet de cromozomi-B sau care au un număr mai mare de astfel de cromozomi.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL XIII

# RADIAȚIILE ȘI EREDITATEA

## PRIMELE CERCETĂRI DE RADIOGENETICĂ

De bună seamă că atît William Röentgen în momentul în care a descoperit (1895) misterioasele raze X, Henri Becquerel cînd a constatat (1896) faptul că uraniul emite radiații cît și Pierre și Marie Curie (1898) cînd au descoperit radioactivitatea radiumului, au fost fiecare în parte conștienți de valoarea excepțională a realizărilor lor. Au întrezărit poate că era nouă pentru știință — era energiei atomice — avea să imprime în scurt timp o dezvoltare nemaiîntîlnită chimiei, fizicii, tehnicii. Dar, ceea ce probabil n-au putut imagina a fost faptul că descoperirea radioactivității avea să aibă repercusiuni hotărîtoare pentru extinderea și fundamentarea unor științe, ca biologia, agricultura, medicina și multe altele, cărora energia nucleară le-a oferit mijloace noi de cercetare, nebănuite pînă atunci.

Printre științele care au beneficiat din plin de noile metode de studiu cu ajutorul radiațiilor a fost și genetica, tînăra ramură a biologiei, apărută aproape concomitent cu aceste descoperiri epocale din fizică. Că lucrurile au stat așa l-a probat scurtul răstimp scurs de la descoperirea diferitelor tipuri de radiații și pînă la inițierea cercetărilor care utilizau aceste radiații în studiile de genetică.

Pornind de la cunoașterea existenței fenomenului apariției mutațiilor naturale, geneticienii de la începutul secolului al XX-lea, în căutarea unor factori cu influență puternică asupra organismelor, capabili să provoace modificări bruște ale eredității (mutații), au emis ideea că prin utilizarea acestor radiații se pot obține mutații cu o frecvență mai mare decît cele naturale. Ipoteza a avut ca punct de plecare observațiile repetate ale medicilor, care au atras atenția asupra modificărilor impor-

Scanned with OKEN Scanner

tante constatate în țesuturile bolnavilor tratați cu raze Röentgen și cu radium

Primele cercetări privind efectul radiațiilor X asupra plantelor au fost efectuate de C. Stuart Gager de la Grădina botanică din New-York, în perioada 1905—1910. Mai tîrziu, în perioada 1920—1929, James T. Mavor în S.U.A. a studiat, de asemenea, efectul radiațiilor Röentgen la *Drosophila melanogaster* și a publicat 20 de lucrări, descoperind printre altele că la unii indivizi iradiați apar mutante datorită nondisjuncției cromozomilor X ai sexului. Ca urmare, unii indivizi au $2n = 9$ cromozomi, dintre care 3 cromozomi sexuali X X Y.

Începînd cu anul 1927, cercetări de un deosebit interes pentru genetică au fost efectuate de H. J. Muller, care a dovedit că prin iradiere se mărește de cîteva ori frecvența mutațiilor la *Drosophila melanogaster* și totodată a elaborat metoda C 1 B și metoda Muller-5 pentru detectarea mutațiilor letale și recesive de pe cromozomul X. Pentru lucrarea sa *The artificial transmutation of the gene* (1927) și pentru alte cercetări, el a fost distins în 1946 cu Premiul Nobel. S-au pus astfel bazele unei noi ramuri a geneticii — *radiogenetica.*

După descoperirea efectului mutagen al radiațiilor, cercetările de acest gen s-au extins în diferite țări și asupra altor specii : organisme unicelulare, plante superioare, animale vertebrate și nevertebrate.

În anii 1928 și 1930, un alt genetician american L. J. Stadler publică rezultatele obținute în urma unor iradieri cu raze X efectuate la plante de *Zea mays* și *Hordeum vulgare*. La porumb el reușește să obțină sporirea frecvenței mutațiilor prin mărirea timpului de iradiere, iar la orz prin asocierea iradierii cu raze Röentgen cu alte tipuri de radiații (prin impregnarea boabelor cu soluții ale unor săruri de bariu, plumb și uraniu) realizează același lucru.

În Suedia, cunoscutul selecționator H. Nilșon-Ehle inițiază în 1929 cercetări pentru inducerea de mutații la cereale și alte plante cultivate în scopul obținerii unui material valoros pentru ameliorare, studii continuate după 1930 de elevul său A. Gustafsson.

În Uniunea Sovietică s-au făcut cunoscute cam în aceeași perioadă rezultatele cercetărilor lui L. N. Delone (1931) și A. A. Sapeghin (1935) efectuate cu raze X la cereale.

Începînd din 1929, studii intense întreprinde în Germania H. Stubbe la *Antirrhinum majus, Hordeum vulgare, Lycopersicum esculentum* etc., pe care le continuă în prezent la Institutul de Genetică din Gatersleben (R.D.G.).

Un interes deosebit au trezit și cercetările întreprinse la animale de P. Hertwig în Germania (1933) și de G. Snell (1933) în America. Studiind efectul unor doze de raze X variind între 200—400 r asupra spermatogenezei la șoareci, P. Hertwig arată că la 118 descendenți ai unor masculi iradiați a obținut între 9 și 13 mutații.

Radiațiile radioactive au fost utilizate cu succes și în cercetările privind genetica microorganismelor. În 1941 C. și G. Lindegren,

Scanned with OKEN Scanner

tratînd cu raze X ciuperca *Neurospora crassa,* obțin mutații în proporție de 16—33% din totalul indivizilor studiați, reușind să izoleze 20 mutante diferite. Recent, radiațiile și-au spus cuvîntul și în domeniul cercetărilor efectuate pe culturi de celule. În 1957 cercetătorul american M. A. Bender remarcă creșterea accentuată a numărului anomaliilor cromozomiale în culturile de celule de rinichi iradiate cu 25—50 r. Același fenomen a fost observat și în culturile de leucocite iradiate cu $Co^{60}$, unde după o singură doză de 400 r, 56,6% din celule prezentau anomalii cromozomiale cauzate de iradiere.

O dată cu dezvoltarea impetuoasă a tuturor ramurilor științelor, caracteristică epocii moderne, cercetările de radiogenetică își lărgesc necontenit sfera. Perfecționarea mijloacelor și tehnicilor de investigare, intensificarea aprofundării aspectelor biochimice și biofizice ale fenomenelor celulare își pun amprenta și asupra sensului dezvoltării radiogeneticii. Radiogeneticienii utilizează astăzi metode de studiu fizice, chimice, biochimice, matematice, citologice etc., asociate cu metodele proprii geneticii, în scopul descifrării mecanismului genetic al producerii mutațiilor prin iradiere și a căilor de obținere prin acest mijloc a organismelor cu ereditate modificată.

## RADIAȚII MUTAGENE IONIZANTE ȘI NEIONIZANTE

Gama radiațiilor mutagene utilizate astăzi în scopul obținerii modificărilor ereditare la organismele vii este extrem de largă. După R. Prakken (1959), ele pot fi clasificate astfel :

*Radiații neionizante* (care generează reacții fotochimice).

— raze ultraviolete

*Radiații ionizante* (care generează reacții radiochimice).

| | |
|---|---|
| Radiații electromagnetice<br>— raze Röentgen (X)<br>— raze gamma (γ)<br>Radiații corpusculare<br>— raze beta (electroni)<br>— protoni (nuclei de hidrogen) | cu o densitate ionizantă de ± 8—200 pentru 1 $\mu^3$ |
| — neutroni lenți sau rapizi<br>— raze alfa (nuclei de heliu)<br>— diferite particule grele | cu o densitate ionizantă de 500—5000 pentru 1$\mu^3$ sau chiar mai mult. |

*Radiații neionizante* sînt radiațiile ultraviolete care fac parte din spectrul solar invizibil, fiind constituite din fotoni cu energie joasă

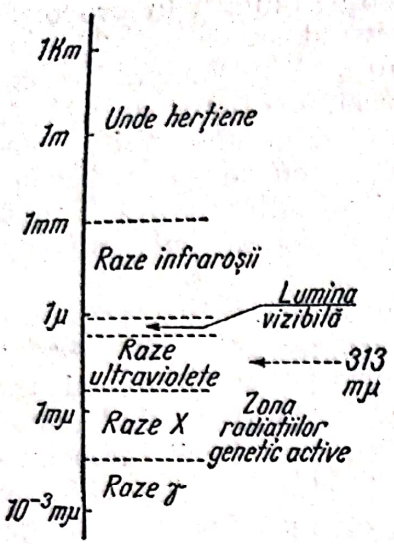



Fig. 143. Radiațiile electromagnetice genetic active (după L'Héritier, 1954).

(în jur de 3—5 ergi pe $m^2$) și cu o lungime de undă cuprinsă între 136 Å și 4 000Å . Efectul lor mutagen a fost pus în evidență de E. Altenburg în 1934, prin experiențe în care trata ouă de *Drosophila melanogaster*. Acțiunea razelor ultraviolete se exercită prin absorbția energiei fotonilor cu diferite lungimi de undă de către moleculele substratului care intră într-o stare de excitație. Viabilitatea unei molecule excitate este în jur de $10^{-9}$—$10^{6}$ secunde. Consecința stării de excitare este apariția unor reacții chimice fluorescente și fosforescente și transmiterea energiei moleculei excitate unei alte molecule în momentul în care acestea se ciocnesc. Asemenea fenomene provoacă reacții chimice secundare variate, în funcție de substratul asupra căruia se exercită acțiunea și de lungimea de undă a razelor ultraviolete respective. Radiațiile ultraviolete au o capacitate penetrantă redusă și de aceea ele se folosesc pentru inducerea de mutații la microorganisme și la polen.

Cercetări recente au arătat că razele ultraviolete cu o lungime de undă de $\pm$ 2 600 Å au o acțiune deosebit de puternică asupra acidului dezoxiribonucleic (A D N) al cărui spectru de absorbție coincide cu această lungime de undă. Aceasta pare de altfel să fie și explicația rolului genetic destul de important al razelor ultraviolete. După datele lui Ph. L'Héritier, lungimea de undă a radiațiilor U.V. genetic active nu depășește 3 130 Å .

*Radiațiile ionizante* din care fac parte radiațiile electromagnetice și cele corpusculare au un efect similar asupra substratului, exercitîndu-se ca unde sau ca particule încărcate cu energie diferită. Ele acționează la nivelul atomilor, fiind capabile să dezorganizeze sferele de electroni care înconjură nucleul atomic.

Se știe că atomul neutru este într-un echilibru electrostatic, numărul sarcinilor electrice pozitive din nucleul atomic fiind egal cu cel al sarcinilor electrice negative ale electronilor. Radiațiile electromagnetice avînd o energie și o viteză foarte mare, întîlnind în drumul lor un atom neutru, sînt capabile să smulgă unul sau mai mulți electroni de pe orbita exterioară a atomului. Prin pierderea unui electron, atomul rămîne

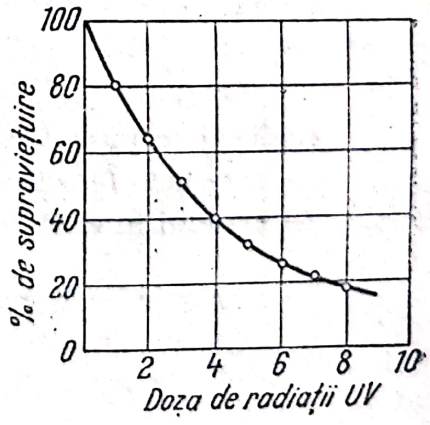



Fig. 144. Inactivarea bacteriofagilor T 1 prin iradiere cu radiații U.V.

cu o sarcină electrică pozitivă în plus, devenind *ion pozitiv sau cation.* Electronul eliberat nu rămîne liber, ci se atașează unui alt atom care, primind o sarcină electrică negativă devine *ion negativ sau anion.* Acest proces poartă numele de *ionizare.* Deși ionii produși în urma iradierii au o viață foarte scurtă, de ordinul $10^{-6}$ dintr-o secundă, totuși ei au mari posibilități de a intra într-o serie întreagă de reacții chimice cu substanțele din materia iradiată, ducînd la apariția unor compuși noi.

*Măsurarea radiației* se realizează de obicei cu ajutorul contoarelor Geiger-Müller, care principial sînt formate dintr-un tub conținînd un gaz care este ionizat prin iradiere, ionizare care poate fi măsurată după amplificarea corespunzătoare. Pentru particulele alfa, neutroni etc. există alte aparate de măsură.

Cea mai curentă unitate de măsură este *röentgenul (r),* egal cu cantitatea de radiații capabile să producă $2{,}08 \times 10^9$ perechi de ioni în 1 $cm^3$ de aer la 0°C și la presiunea atmosferică de 760 mm Hg. Cantitatea de radiații corespunzătoare unei unități röentgen este capabilă să provoace într-un țesut viu formarea unei cantități de ioni de aproximativ 1 000 ori mai mare, adică $2{,}08 \times 10^{12}$. O altă unitate de măsură este *rad-ul* (radiation absorbed dose), care reprezintă cantitatea de energie absorbită de 1 g de materie vie sau nevie. La om se folosește *rem-ul* (röentgen equivalent man) pentru studiul efectelor radiațiilor.

Pentru măsurarea radiației neutronilor rapizi se folosește ca unitate de măsură echivalentul fizic röntgen (e.f.r.), care reprezintă energia folosită pentru ionizare, echivalentă cu energia absorbită de 1 g de apă iradiată cu 1 r de raze X. Măsurarea dozelor de neutroni termici se face direct, prin determinarea cantității de neutroni cu care este bombardată într-o secundă o suprafață de 1 $cm^2$ din materialul iradiat ($N^{th}/cm^2/s$).

Dintre radiațiile ionizante cele mai puternice sînt *radiațiile electromagnetice* și în special razele gamma și razele Röentgen. Ele au o lungime de undă mică și o putere de penetrație foarte mare, producînd ionizarea materiei.

*Razele gamma* au lungimea de undă cea mai mică, cuprinsă între 0,005 Å și 1,4 Å, o energie de activare între 1 și 1 000 MeV și nu sînt deviate într-un cîmp magnetic. Ele iau naștere în cursul oricărei dezintegrări radioactive. Este cunoscut faptul că în momentul dezintegrării unui element radioactiv se emit în principal raze $\alpha$ (protoni), raze $\beta$ (electroni) și raze $\gamma$. Razele gamma sînt rezultatul eliberării unei cantități considerabile de energie emisă în momentul dezintegrării sau mai tîrziu sub formă de radiație electromagnetică cu lungimea de undă foarte mică. Atunci cînd se urmărește în special producerea razelor gamma se utilizează de exemplu săruri de radium închise într-un tub de platină suficient de gros pentru a absorbi razele $\alpha$ și $\beta$. În ultima vreme în

scopuri biologice se utilizează ca sursă de radiații gamma cobaltul radioactiv ($Co^{60}$).

*Razele Röentgen* (X) sînt radiații electromagnetice cu acțiune asemănătoare razelor gamma. Ele au lungimea de undă cuprinsă între 0,06 Å și 100 Å și o energie de activare de 0,01—0,1 MeV. Ele au o putere de penetrație mai mică decît cea a razelor gamma, dar suficient de mare pentru a provoca o ionizare puternică. Razele X sînt asemănătoare radiațiilor gamma, diferind numai prin originea lor. Sînt produse în tuburi speciale constînd dintr-un filament încălzit care acționează ca sursă de electroni și o țintă formată dintr-un element greu care are un potențial pozitiv față de filament, spațiul dintre filament și țintă fiind golit de aer. Se știe că atunci cînd o particulă încărcată se mișcă foarte repede, poate suferi o forță de atracție sau de repulsie în momentul în care trece prin imediata vecinătate a unei alte sarcini electrice. În acest caz, particula în mișcare va fi supusă unei modificări de viteză, care duce la eliberarea de energie. Majoritatea energiei sale cinetice este transformată în căldură, dar dacă particula se mișcă suficient de repede și schimbul de viteză este sensibil, o mică parte din energie va reapărea ca radiație electromagnetică. Aceasta se întîmplă îndeosebi cînd un electron, care are o masă mică, și poate atinge deci cu ușurință viteze mari, trece aproape de un corp puternic încărcat electric, ca, de exemplu, un nucleu atomic al unui element greu. În tubul Röentgen, filamentul încălzit reprezintă sursa de electroni, iar ținta este constituită dintr-un element greu „schimbătorul de viteză", care duce la eliberarea acelei cantități de energie ce iese din tub sub forma fasciculului de radiație electromagnetică X.

Razele X se măsoară ca și cele gamma în unități Röentgen. Aceste radiații se folosesc larg în producerea mutațiilor, deoarece aparatele sînt accesibile, găsindu-se în majoritatea instituțiilor medicale, dozarea razelor X este destul de ușoară, aparatul poate fi oprit din funcțiune după necesități, pe cînd în cazul izotopilor radioactivi emisiunea de radiații este continuă și în sfîrșit pericolul iradierii personalului care lucrează cu astfel de aparate este mult mai redus decît în cazul folosirii unei alte surse de radiații. Aceste avantaje fac ca razele X să ocupe astăzi un loc de frunte în inducerea radiomutațiilor.

Tot din grupa radiațiilor ionizante fac parte *radiațiile corpusculare* emise, de asemenea, în timpul dezintegrării radioactive a unor elemente. Acestea sînt razele $\beta$ (electroni), razele $\alpha$ (nuclei de heliu), protonii (nuclei de hidrogen), neutronii și diverse particule grele.

*Razele alfa* ($\alpha$) sînt puternic deviate de electromagnet și sînt formate din nuclei de heliu, fiind alcătuiți din 2 protoni. Ele au o masă de circa 7 000 de ori mai mare decît a electronului și de aceea au o putere de penetrație în materie foarte mică. Distanța maximă de pătrundere a

particulelor alfa emise, de exemplu, de radium este de aproximativ 4 cm în aer și în jur de 0,07 mm în țesuturile biologice, ceea ce face ca importanța lor genetică să fie redusă. Viteza acestor particule este de 10 000—20 000 km/s.

*Razele beta* (β) reprezintă un flux de electroni expulzați de nucleele atomice cu o viteză de 100 000—300 000 km/sec. Ei au o masă mică și o putere penetrantă de circa 200 de ori mai mare ca a razelor alfa. Ca surse de raze beta pentru inducerea de mutații se folosesc de obicei izotopul radioactiv al fosforului ($P^{32}$) și al sulfului ($S^{35}$). Datorită faptului că pentru manipularea acestor izotopi sînt necesare măsuri speciale de protecție a experimentatorului de acțiunea lor dăunătoare, razele beta sînt mai puțin utilizate în practica obișnuită de inducere a mutațiilor.

S-a constatat că în special radioizotopii fosforului ($P^{32}$) au o acțiune mutagenă mai puternică L. Ehrenberg, A. Gustafsson, A. Levan și U. Wettstein (1949) au dovedit că 5 microcurie de raze beta de la $P^{32}$ pentru o sămînță de orz produc un efect mutagen similar cu o doză de 10 000 r de raze X.

*Neutronii* sînt particule elementare neutre emise, de asemenea, în cursul unei reacții nucleare, în special în reacțiile de dezintegrare a nucleului de uraniu și de plutoniu. Fiind lipsiți de sarcină electrică, ei nu sînt atrași sau respinși de electronii sau nucleii materiei prin care trec. În funcție de energia pe care o posedă, neutronii pot fi *rapizi* (cu energii mai mari decît 0,5 MeV), cu o *viteză medie* (avînd energii între 0,5 MeV și 1 KeV), *lenți* (cu energii între 1 KeV — 1 eV) și *termici* (cu energii sub 0,1 eV). Străbătînd o substanță oarecare, ei se ciocnesc de nucleii atomici ai acesteia. În urma unei astfel de ciocniri se pot produce două efecte : nucleul lovit de neutron poate începe să emită protoni (ceea ce se întîmplă în cazul iradierii cu neutroni rapizi) sau neutronul poate pătrunde în nucleu fiind capturat de acesta (ceea ce se întîmplă în cazul iradierii cu neutroni lenți și termici). Respingerea în urma ciocnirii este deosebit de importantă cînd materialul traversat de neutronii respinși este bogat în hidrogen, ca, de exemplu, apa sau țesuturile biologice. Un nucleu de hidrogen constă numai dintr-un proton și deși protonul și neutronul au aproape aceeași masă, nucleul de hidrogen este pus în mișcare în urma ciocnirii cu neutronul. În țesuturile vii iradiate cu neutroni se formează un mare număr de protoni în mișcare în jurul traseului fiecărui neutron. În schimb, neutronii lenți și termici pot fi capturați de nucleii atomici ; aceasta poate duce fie la emisia unei particule, fie a unui foton de radiație X sau la emisia lor simultană. De asemenea, aceasta poate duce la formarea unui izotop mai greu, care poate fi radioactiv sau stabil. În ambele situații, ira-

dierea cu neutroni duce la producerea unui număr de particule încărcate electric şi ioni, care generează reacţii chimice noi caracteristice unui material ionizat.

## EFECTELE BIOLOGICE ALE RADIAŢIILOR

Toţi factorii mutageni amintiţi mai sus, atît radiaţiile ionizante cît şi cele neionizante, sînt astăzi produşi pe cale artificială cu ajutorul unor aparate sau instalaţii speciale. Ei există însă şi în natură, intrînd în componenţa radiaţiei cosmice care scaldă necontenit planeta noastră, în componenţa atmosferei (gazul radon) sau provin în urma dezintegrării naturale a elementelor radioactive din scoarţa pămîntului, ori din cea a izotopilor radioactivi ai diverselor elemente stabile. La un loc, aceşti factori alcătuiesc *fondul natural de radiaţii terestre* şi care nu este decît una din condiţiile de mediu în care au apărut şi s-au dezvoltat vieţuitoarele pe pămînt. Ele au constituit şi constituie o cauză a ivirii mutaţiilor naturale, izvor nesecat de apariţie a formelor noi, fiind în acelaşi timp şi un mijloc important de selecţie naturală.

Efectul acestor factori asupra organismului este deosebit în special atunci cînd unul sau altul dintre ei sau toţi la un loc acţionează într-o cantitate ce depăşeşte nivelul mediu al fondului natural de radiaţii. Există numeroase regiuni de pe faţa pămîntului cu o radioactivitate crescută, cum sînt cele din locurile în care se găsesc zăcăminte de minereu radioactiv, sau zonele cu altitudine mare unde influenţa radiaţiei cosmice şi a razelor ultraviolete asupra vieţuitoarelor este sporită.

Diferenţele privind intensitatea radiaţiilor în diferite locuri de pe faţa pămîntului explică şi *existenţa unei sensibilităţi diferite a organismelor vii faţă de radiaţii.* La unele specii de ciuperci prin iradiere cu o doză de numai 0,01 r li se poate frîna dezvoltarea, în timp ce muştele iradiate cu o doză de 30 000 r se hrănesc, zboară şi se comportă normal. Infuzorii mor dacă sînt iradiaţi cu o doză mai mare de 300 000 r, iar alga verde *Clorella* rezistă chiar la acţiunea unor doze de milioane de röentgeni. Bacteria *Pseudomonas* deţine recordul rezistenţei în lumea vie la acţiunea radiaţiilor. De curînd, cercetătorii din laboratorul de la Los-Alamos (S.U.A.) au observat că apa în care era imersionat reactorul nuclear se tulbura datorită prezenţei unui număr mare de bacterii din genul *Pseudomonas* care trăia şi se înmulţea în ciuda faptului că doza de iradiere a apei ajungea pînă la 10 milioane r. *Mamiferele sînt de obicei mai sensibile la iradiere decît păsările, peştii, amfibienii, moluştele şi organismele unicelulare.* Şobolanii, de exemplu, manifestă o radiosensibilitate de cinci ori mai mare decît porumbeii.

Scanned with OKEN Scanner

În tabelul de mai jos sînt prezentate dozele de raze X care omoară jumătate din animalele iradiate în decurs de 30 de zile de la iradiere. O astfel de doză a primit denumirea de doză letală 50% și se notează DL-50.

| Speciile | Dozele, în r |
|---|---|
| Cobai | 300 — 350 |
| Porc | 275 — 335 |
| Cîine | 325 — 400 |
| Șoarece | 350 — 500 |
| Șobolan | 450 — 600 |
| Om | 450 |
| Maimuță | 500 |
| Iepure de casă | 900 — 1 000 |
| Găină | 1 000 |
| Salamandră | 3 000 |
| Drosophila melanogaster | 46 000 |
| Infuzori | 30 000 |
| Paramecium | 350 000 |

Plantele manifestă, de asemenea, o radiosensibilitate variată. În tabelul de mai jos sînt înserate date privind radiosensibilitatea unor semințe * din care s-a obținut o germinație de numai 50%.

| Speciile | Dozele, în r |
|---|---|
| Brad | 600 — 900 |
| Cînepă | 7 000 |
| Fasole | 8 000 |
| Mazăre | 5 000 — 15 000 |
| Secară | 10 000 — 15 000 |
| Mac | 15 000 |
| Nap | 25 000 — 35 000 |
| Tomate | 30 000 — 40 000 |
| In | 40 000 — 50 000 |
| Muștar | 100 000 |

Din tabelele de mai sus reiese că gama sensibilității viețuitoarelor la iradiere este foarte vastă, dar cîteva concluzii generalizatoare se pot trage din studiile efectuate în această direcție. Astfel A. H. Sparow și E. Christensen (1953), care au studiat efectul iradierii cronice cu radiații gamma în cîmpul de la Brookhaven National Laboratory la

* După A. Gustaffson și Von Wettstein (1958).

mai multe specii de plante superioare, au constatat că *plantele cu cromozomii mari sînt mai sensibile la iradiere decît cele cu cromozomii mici*, după cum reiese din datele tabelului următor :

| Speciile | Nr. de săptămîni de iradiere | Efectul dozelor de iradiere, în *r* pe zi | |
|---|---|---|---|
| | | Redus | Puternic |
| *Lilium longiflorum* | 15 | 20 | 30 |
| *Vicia faba* | 15 | 60 | 90 |
| *Melilotus officinalis* | 14 | 100 | 240 |
| *Gossypium hirsutum* | 15 | 110 | 250 |
| *Zea mays* | 13 | 110 | 250 |
| *Luzula purpurea* | 10 | 125 | 300 |
| *Canna generalis* | 18 | 180 | 350 |
| *Lactuca sativa* | 7 | 180 | 600 |
| *Antirrhinum majus* | 18 | 250 | 400 |
| *Licopersicon esculentum* | 15 | 250 | 400 |
| *Solanum tuberosum* | 10 | 300 | 600 |
| *Petunia hybrida* | 10 | 300 | 700 |
| *Allium cepa* | 18 | 400 | 800 |
| *Linum usitatissimum* | 10 | 600 | 1 100 |
| *Digitaria sp.* | 12 | 1 000 | 1 800 |
| *Brassica oleracea* | 10 | 1 400 | 2 500 |
| *Gladiolus hibrid* | 8 | 4 100 | 6 000 |

De asemenea, s-a constatat că mărirea dozei de radiații determină o creștere liniară corespunzătoare a frecvenței mutațiilor. Astfel, W. P. Spencer și C. Stern (1948), folosind metoda Müller-5, au determinat frecvența mutațiilor letale legate de cromozomul X la *Droso-*

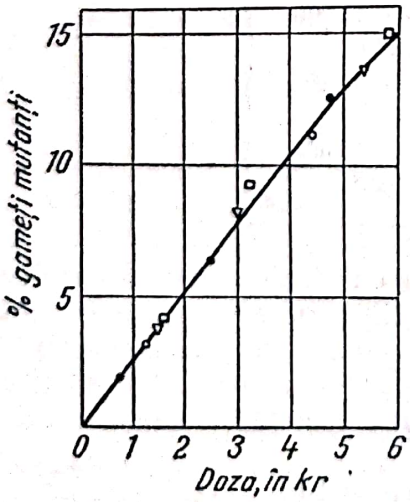



Fig. 145. Frecvența mutațiilor pe cromozomul X la *Drosophila melanogaster* prin iradiere cu raze Röntgen (după Zimmer și Timofeev-Rosovschi, 1942).

*phila melanogaster*, constatînd o *creștere direct proporțională a mutațiilor în funcție de doza de iradiere*, după cum reiese din tabelul următor :

| Doza în Roentgeni | Nr. de indivizi testați | Nr. de cromozomi *X* cu gene letale | Frecvența mutațiilor letale la $10^4$ gameți |
|---|---|---|---|
| 0 | 73 901 | 72 | 10 |
| 25 | 51 907 | 88 | 17 |
| 50 | 31 560 | 77 | 24 |
| 150 | 23 195 | 74 | 32 |
| 500 | 6 634 | 87 | 13i |
| 1 000 | 6 977 | 147 | 211 |
| 2 000 | 2 755 | 130 | 472 |
| 3 000 | 2 029 | 132 | 651 |
| 4 000 | 1 843 | 182 | 988 |

*Sensibilitatea cea mai accentuată față de radiații o au mamiferele* și îndeosebi puii nou-născuți. Pe parcursul dezvoltării, rezistența animalelor la radiații crește, pentru ca ea să scadă din nou la bătrînețe. În schimb organismele unicelulare sînt foarte rezistente la iradiere, cu excepția ciupercii *Phycomyces blakesleeanus*, care reacționează și la doze extrem de mici, ca cele de 0,01 r. Analiza radiosensibilității unor microorganisme ca *Escherichia coli*, bacteriile lizogene și drojdiile, care au devenit obiecte curente de studiu în genetica actuală, prezintă o mare importanță, ele fiind adesea folosite ca obiecte test. Insectele sînt destul de rezistente la iradiere, uneori însă mai puțin decît organismele unicelulare. Și la aceste viețuitoare se observă o variație a radiosensibilității în funcție de vîrstă. De exemplu, *Drosophilele* adulte rezistă la o doză de iradiere de 64 000 r, dar devin sterile, în timp ce ouăle după o iradiere de 32 000 r și chiar 16 000 r pierd posibilitatea de a mai da naștere larvelor. Radiosensibilitatea altor categorii de nevertebrate a fost studiată sporadic. S-a constatat, de exemplu ,că larvele de *Trichinella spiralis* care parazitează intestinul și mușchii multor mamifere sînt rezistente la doze de 3 250 — 3 750 r. Plantele superioare manifestă o radiosensibilitate extrem de variată.

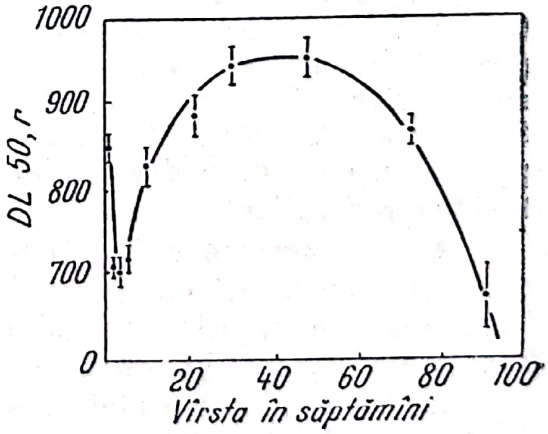



Fig. 146. Variația radiosensibilității șoarecilor din linia SAS/4 după vîrstă (după Grossfill și colab., 1959).

Cercetîndu-se cauzele răspunsurilor diferite pe care le dau viețuitoarele la acțiunea factorilor ioni-

zanți, s-au emis mai multe ipoteze. Dintre acestea atrage îndeosebi atenția ipoteza care leagă radiosensibilitatea organismelor de numărul de cromozomi. O serie de exemple vin să sprijine această ipoteză. Drojdia diploidă de exemplu, este mai puțin sensibilă la iradiere decît cea haploidă. În plus *a fost dovedită sensibilitatea sporită la iradiere a organismelor hibride.*

S-a observat, de asemenea, că variația sensibilității diverselor organe dintr-un corp viu iradiat este destul de mare, primele afectate fiind glandele sexuale masculine și feminine, urmate de organele hematopoetice, țesutul osos la organismele tinere și glandele cu secreție internă, pentru a nu aminti decît pe cele cu sensibilitatea cea mai pronunțată. Ținînd seama de importanța celulelor reproducătoare în transmiterea ereditară a caracterelor, radiosensibilitatea lor crescută este deosebit de importantă din punct de vedere genetic.

## BIOCHIMIA EFECTULUI RADIOBIOLOGIC

Efectul iradierii unui organism viu prezintă în linii mari aceleași caracteristici la majoritatea viețuitoarelor, fiind definit cu termenul generic de *efect radiobiologic.* El constă în modificarea chimică a unor componente celulare, care poate fi declanșată printr-o *acțiune directă* și o *acțiune indirectă* a radiațiilor. Acestora li se adaugă *efecte de la distanță,* determinate de răspunsul întregului organism viu la traumatismul cauzat de iradiere.

Prin *acțiunea directă,* molecula care suferă modificarea este ionizată nemijlocit. O serie de observații efectuate în experiențele de producere a mutațiilor cu radiații X de către N. W. Timofeev-Ressovsky și colaboratorii i-a dus la formularea în 1935 a *teoriei țintei* (Treffertheorie), care pusă de curînd (1954) de acord cu principiile naturii cuantice a absorbției radiațiilor după legile probabilității statistice a permis explicarea multor acțiuni ale radiațiilor asupra organismelor monocelulare și a unor urmări genetice ale iradierii. Ea este însă insuficientă pentru interpretarea acestor acțiuni la nivelul unor organisme superioare, ceea ce a dus la dezvoltarea concepției asupra acțiunii indirecte a radiațiilor.

Această *acțiune indirectă* nu se exercită la nivelul moleculei care ar absorbi ea însăși energia radiantă, ci această energie îi este transferată prin intervenția unui „purtător de energie", adică a unui produs intermediar rezultat în apropierea sediului reacției.

La baza reacțiilor biologice declanșate în urma iradierii stau procesele radiochimice. Radiațiile corpusculare și ondulatorii determină simultan ionizări și mecanisme de transfer de energie care duc la modificări extrem de complexe ale soluțiilor în care sînt proiectate. Ionii,

Scanned with OKEN Scanner

moleculele excitate, legăturile metastabile și radicalii liberi rezultați în urma ionizării pot provoca acțiuni chimice secundare. Cum procesele biochimice au loc în organismele vii unde soluțiile apoase predomină, în majoritatea reacțiilor declanșate de radiații intervine ca intermediar apa.

Cuanta sau particula inițială purtătoare de energie determină expulzarea unui electron din molecula de apă, luînd naștere ionul $H_2O^+$ care la rîndul său se disociază aproape instantaneu (după $10^{-6}$—$10^{-13}$ secunde), într-un ion $H^+$ și un radical liber $OH^*$ :

$$H_2O - e^- \longrightarrow H_2O^+$$
$$H_2O^+ \longrightarrow H^+ + OH^*$$

Electronul eliberat din prima reacție parcurge o distanță corespunzătoare energiei cinetice care-i este comunicată, ducînd la alte ionizări. Acești electroni pot să se combine, în urma cedării majorității energiei pe care o posedă, cu moleculele de apă, formînd ioni $H_2O^-$ care se descompun imediat într-un ion hidroxil ($HO^-$) și un atom instabil de hidrogen ($H^*$) :

$$H_2O + e^- \longrightarrow H_2O^-$$
$$H_2O^- \longrightarrow H^* + OH^-$$

Electronii mai pot fi captați de un ion $H^+$, care se transformă într-un atom, de asemenea, instabil de hidrogen :

Radicalul $H^*$ formează în prezența oxigenului molecular dizolvat în apă radicalul $HO_2{}^*$.

Radicalii $OH^*$ și $H^*$ au o viață foarte scurtă, de numai $2 \times 10^{-7}$ secunde, iar radicalul $HO_2{}^*$ are o viață ceva mai lungă, fiind de aceea și cel mai activ dintre ei. Prezența în apă a radicalilor $OH^*$, $H^*$ și $HO_2{}^*$ determină reacții de reducere, dar mai ales de oxidare, astfel că substanțele organice de mare importanță din celulele sau țesuturile iradiate suferă modificări chimice reversibile sau ireversibile.

## RADIAȚIILE ȘI ACIZII NUCLEICI

Gama proceselor chimice provocate de reacțiile de oxidare și reducere rezultate în urma iradierii este extrem de vastă și ele au repercusiuni în primul rînd asupra macromoleculelor proteice, fermenților și asupra acizilor nucleici. Ținînd seama de importantul rol genetic al acizilor nucleici, ne vom opri mai amănunțit asupra influenței iradierii la nivelul ADN și ARN. Aceasta a fost studiată mai ales in vitro. Prima

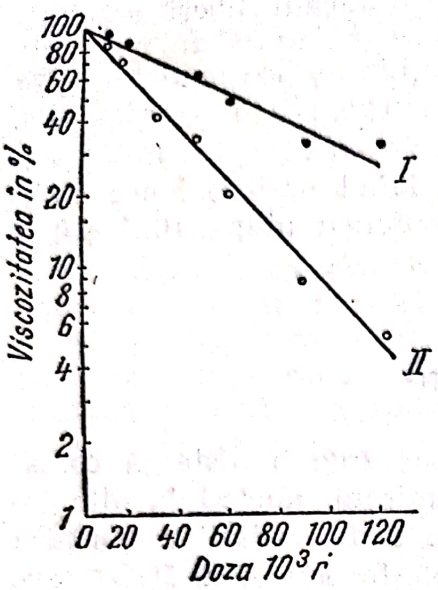



Fig. 147. Reducerea vîscozității nucleohistonelor (I) și A D N (II) prin iradiere cu raze Röentgen (după Sparow și Rosenfeld, 1946).

modificare constatată a fost scăderea considerabilă, în urma iradierii, a viscozității soluțiilor conținînd A D N. Fenomenul se produce atît în substanța nedizolvată cît și în soluție. B. Taylor, J. P. Greenstein și A. E. Hollaender (1948) au constatat că viscozitatea (una din însușirile caracteristice ale acizilor nucleici) continuă să scadă mai multe ore după încetarea iradierii, considerîndu-se că aceasta se datorește depolimerizării acizilor nucleici sub influența iradierii. R. Setlow și B. Doyle au arătat în 1954 că A D N-ul uscat iradiat în vid devine insolubil.

P. Alexander și J. T. Lett au încercat încă în 1960 să explice efectul iradierii asupra A D N-ului. Ei pornesc de la presupunerea că prin iradiere în unele cazuri se rupe unul din cele două lanțuri ale macromoleculei de A D N, rămășițele acestor rupturi (capetele de lanț) fiind capabile

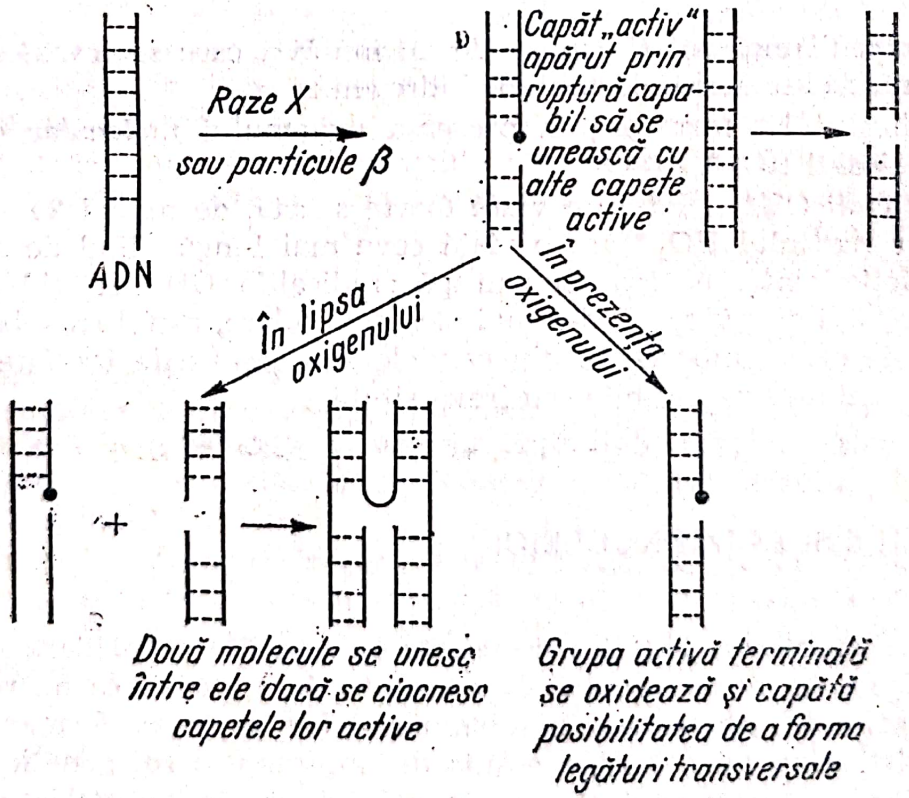



Fig. 148. Influența radiațiilor X sau asupra macromoleculei de A D N (după Alexander și Lett, 1960).

să reacționeze în mod similar cu alte asemenea capete de lanțuri rupte și să formeze *legături transversale*. În alte cazuri se poate produce distrugerea întregului lanț macromolecular al A D N-ului și aceasta atunci cînd rupturile coincid (sînt față în față). În urma formării legăturilor transversale sporește cantitatea de apă din A D N de la 0 la 200%. Datorită acestui fenomen, formarea legăturilor transversale scade din nou, în schimb sporesc rupturile în urma distrugerilor întregului lanț și eliberarea radicalilor liberi care din nou favorizează apariția legăturilor transversale. Asemenea fenomene ar duce, după autorii ipotezei, la alterarea A D N-ului.

P. D. Lawley și P. Brookes au emis în 1962 o altă ipoteză, și anume că razele X, ca și substanțele radioactive produc o ionizare anionică a bazelor, ceea ce ar duce la formarea unor punți de hidrogen neobișnuite între bazele purinice și pirimidinice din molecula de ADN (de exemplu G—T sau T—G). Acestea ar genera greșeli în copierea mesajului genetic. K. Burton (1962) arată că timina este mai sensibilă la acțiunea radiațiilor ionizante decît alte baze, iar dezoxiriboza manifestă și ea o oarecare sensibilitate. Asemenea explicații însă se mențin pînă în momentul de față la un nivel ipotetic.

De curînd s-a pus în evidență faptul că radiațiile ultraviolete pot provoca, de asemenea, modificări importante din punct de vedere genetic, mai ales cele cu lungimea de undă de ± 2 600 Å lungime de undă care corespunde cu spectrul de absorbție al ADN-ului.

Mecanismul prin care radiațiile ultraviolete induc mutații nu este cunoscut. S-a constatat deocamdată că radiațiile ultraviolete exercită o acțiune asupra moleculelor de ADN izolate sau asupra nucleotidelor, inactivîndu-le. Unele presupuneri converg spre ideea că ar avea loc o

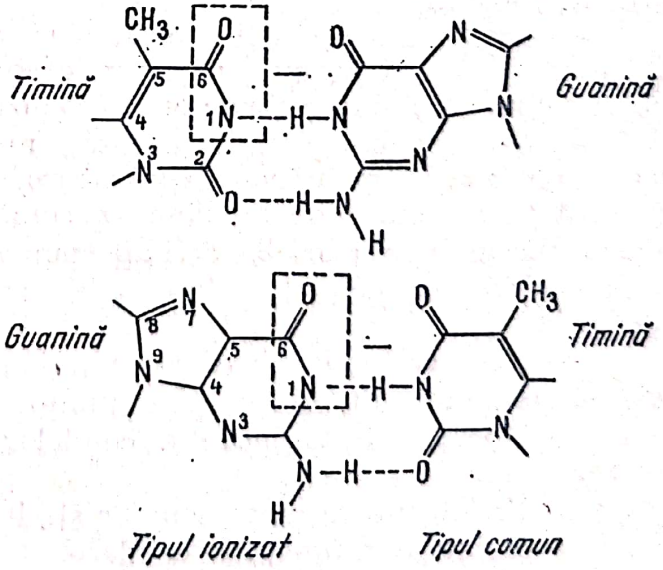



Fig. 149. Imperecherea greșită a bazelor azotate datorită ionizării atomului de azot ($N^+$) (după Stahl, 1964).

depirimidinizare a catenelor de ADN, care ar produce suprimări în mesajul genetic.

De curînd s-a observat că la o parte din bacteriile inactivate prin tratare cu radiații ultraviolete are loc o restaurare a proprietăților biologice, în special reproducerea, capacitatea mutațională și cea transformantă. Această reactivare se produce în proporție de aproximativ 50% și se bazează pe reversibilitatea dezordinilor cauzate de radiațiile ultraviolete în molecula de ADN. J. Marmur și L. Grossman (1961) presupun că reactivarea s-ar datora unor enzime celulare care ar desface lanțurile de ADN legate transvers, înlăturînd dezordinile provocate de iradiere cu radiații ultraviolete.

Ținînd seama de dificultățile studierii efectelor iradierii asupra acizilor nucleici in vitro, multe aspecte ale mecanismului acestui proces continuă să fie în prezent obiectul cercetărilor de genetică moleculară. În orice caz, cunoștințele actuale de radiobiologie nu conduc la concluzia că iradierea ar acționa direct asupra moleculei de ADN, nici o dată experimentală nedovedind pînă în momentul de față posibilitatea schimbării prin iradiere a succesiunii tripletelor de baze care determină codul genetic. Dimpotrivă, ele concură spre ipoteza tulburării prin iradiere a unor procese metabolice celulare și, ca urmare, a biosintezei ADN. Mulți cercetători presupun că tocmai în această deviere a replicației ADN-ului constă mecanismul mutației.

## RADIAȚIILE ȘI CELULA VIE

Una dintre principalele consecințe vizibile ale acțiunii iradierii asupra materiei vii constă în apariția unor modificări structurale la nivel celular, și anume :

— Încetinirea sau chiar oprirea mitozelor după care celulele continuă să se dividă normal. Diviziunile consecutive iradierii pot fi temporar tulburate și îndeosebi cinetica cromozomilor.

— Sistarea completă a mitozei, neînsoțită de moartea celulelor (care continuă să manifeste metabolism), dar urmată de o pierdere definitivă a capacității de diviziune a celulei. Această „sterilizare" a celulelor joacă un rol deosebit de important în terapia tumorilor neoplazice.

— Moartea celulelor după una sau cîteva diviziuni consecutive iradierii.

— Moartea celulelor după mai multe ore de la iradiere, fără ca ele să mai intre în mitoză (așa numita moarte intercinetică).

— Moartea instantanee a celulelor la doze foarte mari de iradiere.

— Fragmentarea cromozomilor și alte anomalii cromozomiale.

— Tulburarea funcțiilor celulare.

Scanned with OKEN Scanner

Nu numai atît, dar chiar *în cursul diferitelor faze ale diviziunii celulare se observă o mare variabilitate în ceea ce privește radiosensibilitatea.* Astfel A. H. Sparow și colaboratorii (1953, 1956, 1958), care au studiat radiosensibilitatea plantelor de *Trillium erectum* în cursul diviziunii reducționale, au remarcat că faza de diploten, urmată în ordine de metafaza I și anafaza I sînt cele mai sensibile la iradiere, fapt remarcat prin numărul mare de fragmentări ale cromozomilor.

Se consideră că inhibiția mitozei și meiozei în urma iradierii sînt consecința blocării biosintezei ADN-ului care în mod normal crește considerabil spre sfîrșitul interfazei. Analizînd celulele meristematice ale rădăcinii de *Vicia faba*, iradiate cu doze mici de radiații X (140 r), Howard și Pelc (1953) au constatat o întîrziere accentuată a mitozei și au pus-o pe seama acestei inhibiții.

Din punct de vedere genetic sînt extrem de importante apariția separării anormale a cromatidelor în anafază, fragmentarea cromozomilor și dispoziția lor alterată. În urma iradierii cromozomii apar lipicioși, aglutinați, „picnotici". Ei rămîn în această stare o perioadă mai lungă de timp în funcție de doza iradierii. De asemenea, este frecventă prezența în celulele în mitoză a punților cromatice — consecință a eșuării separării cromozomilor în cromatide sau a fragmentării cromozomilor în cursul migrării lor în anafază. C. D. Darlington (1953) a presupus că starea de picnoză ar fi datorată depolimerizării unei pelicule de ADN de la suprafața cromozomilor în urma iradierii și care i-ar face să devină aderenți unul de altul.

Rupturile care apar în urma iradierii pot fi în număr diferit și în diferite porțiuni ale cromozomilor, ducînd la apariția *aberațiilor cromozomiale,* de ale căror tipuri fundamentale ne-am ocupat într-un capitol anterior. Cele mai importante aberații cromozomiale sînt : *deleția* — pierderea unui fragment de cromozom, *duplicația* — dublarea unei porțiuni de cromozom, *inversia* — schimbarea poziției unui fragment de cromozom și *translocația* — schimbul de fragmente de cromozomi între 2 sau mai mulți cromozomi neomologi. Ținînd seama de faptul că fundamentul biochimic al cromozomilor este reprezentat de nucleoproteine de o anumită structură, este limpede că aberațiile cromozomiale, aceste tulburări ireversibile survenite în structura nucleoproteinelor, atrag după ele dereglări în metabolismul intracelular, avînd în cele din urmă consecințe de ordin genetic.

Modificările structurale observate în materialul viu iradiat, care nu se rezumă numai la fenomenul aberațiilor cromozomiale, au ridicat problema mecanismului apariției lor. Iar întrebarea : cine determină modificările ereditare apărute în urma iradierii, nucleul sau citoplasma celulei ? a revenit ca un vechi leitmotiv de bază al geneticii.

Cercetările de radiogenetică și-au spus cuvîntul și în această problemă atît de disputată. Perfecționarea tehnicilor de investigare a permis efectuarea unor experiențe de *iradiere locală* a componenților celulei, precum și de reunire a citoplasmei iradiate cu nucleu neiradiat și

Scanned with OKEN Scanner

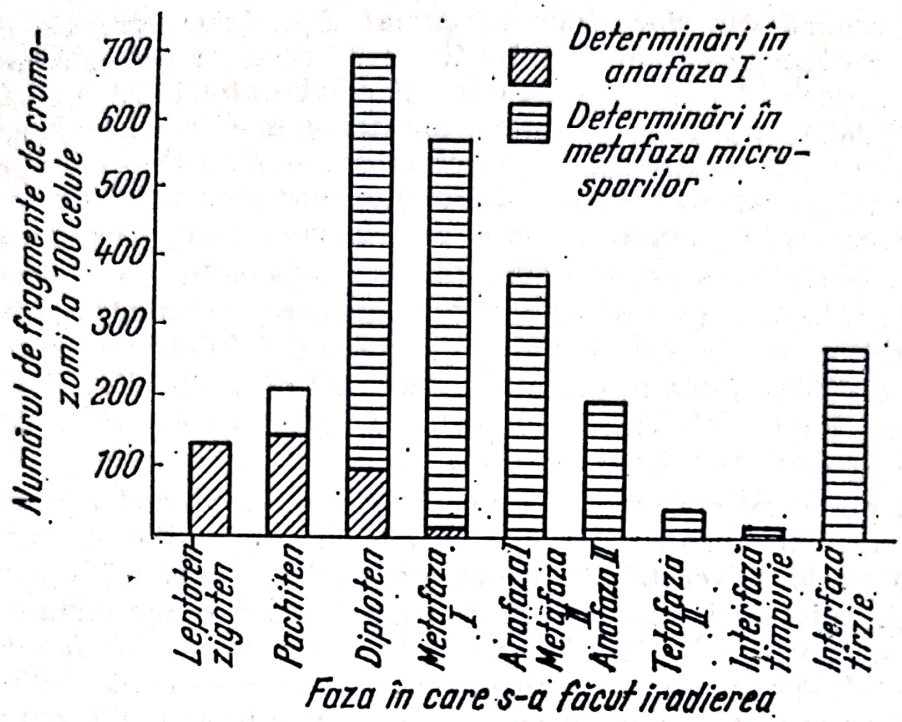



Fig. 150. Variația radiosensibilității la *Trillium erectum* în cursul microsporogenezei (după Singleton, 1964).

invers. Aceasta se realizează fie cu ajutorul unor microgrefe, fie prin obținerea unei *pseudofecundări* în urma căreia se formează *embrioni merogoniali sau androgenetici,* adică embrioni care moștenesc citoplasma de la mamă și materialul nuclear de la tată.

Iradierile locale se obțin fie prin protejarea părții celulei care conține nucleu (sau invers), fie cu ajutorul unor fascicule de raze a căror grosime se poate observa numai la microscop, fie prin folosirea radiațiilor alfa emise de plutoniu, ce pot fi orientate în așa fel asupra celulelor cu nucleu periferic, încît aceste particule să ajungă numai în partea celulei pe care experimentatorul dorește s-o iradieze. Astfel de experiențe efectuate pe ouă în diviziune de *Drosophila, Habrobracon,* spori de ferigă sau în culturi de celule de tritoni, pui de găină etc. au evidențiat un efect foarte slab dacă se acționează asupra citoplasmei și un efect foarte puternic dacă se acționează asupra nucleului. Rezultate pozitive au dat numai iradierile citoplasmei cu doze foarte mari, care ating 200 000—300 000 r la amoebe și 720 000 r la *Acetabularia* (algă gigantă monocelulară), cînd modificările survenite erau însă reversibile dacă nucleul nu a fost și el iradiat.

Explicația acestor fenomene trebuie căutată, pe de o parte, în sensibilitatea extremă de mare a unor componenți specific nucleari ca lanțurile polinucleotidice de A D N din cromozomi și, pe de altă parte, în rolul deosebit pe care-l joacă nucleul și citoplasma în procesele de importanță vitală. Vrînd să ilustreze acest efect diferit al radiațiilor asu-

pra nucleului și citoplasmei, B. L. Astaurov (1962) face o analogie reușită, arătînd că un glonte distruge în egală măsură atît mușchiul inimii cît și mușchii picioarelor; totuși în cazul rănirii inimii moartea survine nu din cauză că inima este mai vulnerabilă decît piciorul, ci din cauză că fără funcționarea ei este absolut imposibilă activitatea vitală a organismului. Acest mod de a privi din punct de vedere funcțional problema cauzelor obținerii rezultatelor net diferite în urma iradierii nucleului față de iradierea citoplasmei mută centrul de greutate al problemei pe descifrarea rolului acestor componenți celulari în procesele de activitate vitală normală.

Nucleul și citoplasma îndeplinesc funcții diferite în celulă. Specializat în mare măsură pentru realizarea informației ereditare, deținînd pozițiile cheie care controlează biosinteza proteinelor și a unor fermenți specifici, nucleul are o stabilitate accentuată calitativă și cantitativă și nu are decît o posibilitate redusă de restabilire a modificărilor pe care le-a suferit, ele devenind mutații genetice. În schimb citoplasma care realizează principalele procese specifice materiei vii are o structură nestabilă și o capacitate însemnată de a se restabili în urma leziunilor provocate. Ca atare, nucleul și citoplasma nu au aceeași însemnătate funcțională, însă în cadrul celulei, în ansamblu, ele formează o unitate indisolubilă și armonioasă, dar o unitate a contrariilor.

Diviziunile anormale, apărute în urma iradierii sînt consecința modificării desfășurării normale a proceselor biochimice din celula vie. În mod schematic, lanțul acestor fenomene poate fi reprezentat astfel:

*Procese fizice (depinzînd de natura radiațiilor)* ⟶ *procese radiochimice* ⟶ *reacții viciate ale schimbului metabolic* ⟶ *apariția de modificări structurale observabile la microscop și de schimbări funcționale.*

Z. M. Bacq și A. Herve au emis încă în 1952 *ipoteza degajării fermenților.* Ea a fost dezvoltată și susținută experimental de cercetătorul sovietic A. M. Kuzin și colaboratorii săi. Ei au arătat că procesele fizico-chimice inițiale care se petrec în celula iradiată duc la o tulburare a însușirilor unui număr mare de membrane din celulă, ca, de exemplu, învelișul extern și pereții despărțitori din mitocondrii. Îndeosebi se modifică permeabilitatea membranelor pentru diferite substanțe și ca urmare se eliberează fermenții fixați pe membrane sau incluși în interiorul mitocondriilor. Fermenții eliberați intră în reacție cu substratul asupra căruia acționează și de care erau înainte izolați. Aceste reacții încurcă mersul normal, strict determinat și ordonat al proceselor biochimice din celulă, ducînd la apariția unor produși toxici, dăunători.

Deși verosimilă, această ipoteză nu explică mecanismul modificării permeabilității membranei și este insuficientă pentru înțelegerea mersului fenomenului la organismele pluricelulare unde celula nu este decît o parte a întregului organism cu care interacționează necontenit. Ceea

Scanned with OKEN Scanner

ce este valoros în această ipoteză este legătura pe care autorii o fac între iradiere, metabolismul celulelor şi mutaţie, fenomene atît de strîns legate.

## FACTORII CARE INFLUENŢEAZĂ EFECTUL GENETIC AL IRADIERII

Diferite tipuri de organisme, şi *în cadrul aceluiaşi organism diferitele ţesuturi au o radiosensibilitate variată*, fenomen care are un rol important în reacţia fiinţelor vii faţă de radiaţii. În afară de aceasta însă, o serie de alţi factori condiţionează rezultatele genetice ale iradierii. Unii dintre ei sînt legaţi de natura iradierii *(doza, timpul de expunere* şi *tipul radiaţiei)*, iar alţii de anumite condiţii ale mediului în care se găseşte organismul iradiat *(oxigenul, umiditatea, temperatura şi unele substanţe chimice)*.

Studiul importanţei dozelor de iradiere a început o dată cu experienţele de pionierat ale lui H. J. Müller, care a folosit doze diferite de raze Röentgen şi le-a comparat efectul. Cercetări ulterioare mai amănunţite la *Tradescantia, Zea mays, Drosophila melanogaster* şi alte organisme au demonstrat faptul că *frecvenţa mutaţiilor creşte proporţional cu doza de iradiere*. Reunind observaţiile lui C. P. Oliver (1930, 1932), W. B. Efroimson (1931), J. Schechtman (1930) şi ale lui N. W. Timofeev-Ressovski (1934), K. G. Zimmer publică în 1934 un tabel privitor la procentul mediu al mutaţiilor letale obţinute la *Drosophila melanogaster* prin iradiere cu doze diferite de raze Röentgen şi decelate cu ajutorul metodei C 1 B :

| Dozele, în r | % de mutaţii |
|---|---|
| 385 | 1,18 |
| 750 — 770 | 2,70 |
| 1 125 — 1 200 | 3,20 |
| 1 500 — 1 540 | 4,43 |
| 2 250 — 2 400 | 6,80 |
| 3 000 — 3 080 | 9,10 |
| 3 600 | 10,69 |
| 4 500 — 4 800 | 12,15 |
| 6 000 — 6 160 | 15,74 |
| 9 000 | 18,30 |

Iradiind muguri de *Antirrhinum majus*, H. Stubbe (1932) a obținut rezultatele următoare :

| Dozele, în r | % de mutații |
|---|---|
| 100 | 3,46 |
| 200 | 3,97 |
| 400 | 1,24 |
| 800 | 4,41 |
| 1 600 | 6,03 |
| 3 200 | 15,67 |

Interesante din acest punct de vedere sînt și lucrările mai recente ale lui J. S. Kirby-Smith și C. P. Swanson (1954) asupra variației liniare a frecvenței aberațiilor cromozomiale la *Tradescantia* în funcție de doza de iradiere cu neutroni rapizi.

P. Raicu, M. Radu și I. Popovici (1964) urmărind în $X_0$ efectele iradierii la măzăriche constată sporirea diviziunilor anormale o dată cu creșterea dozei de iradiere, după cum se poate remarca din studiul mitozelor din rădăcinile de *Vicia sativa* iradiată cu radiații gamma.

| Varianta | Număr de celule în diviziune analizate | | | | | | Metafaze | | Anafaze | | Telofaze | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Total | | Normale | | Modificate | | Normale | Modificate | Normale | Modificate | Normale | Modificate |
| | Nr. | % | Nr. | % | Nr. | % | % | % | % | % | % | % |
| Martor | 366 | 100 | 357 | 97,5 | 9 | 2,5 | 97,7 | 2,3 | 97,7 | 2,3 | 97,3 | 2,7 |
| 7 000 r | 337 | 100 | 245 | 72,7 | 92 | 27,3 | 83,8 | 16,2 | 66,1 | 33,8 | 72,9 | 27,1 |
| 10 000 r | 657 | 100 | 483 | 73,5 | 174 | 26,5 | 85,7 | 14,3 | 68,7 | 31,3 | 73,5 | 26,1 |
| 13 000 r | 1145 | 100 | 724 | 63,5 | 421 | 36,8 | 77,6 | 22,4 | 54,9 | 45,1 | 64,0 | 36,0 |

Acțiunea mutagenă dispare dacă dozele devin letale sau subletale. O doză de 12 000 r produce la *Drosophila melanogaster* o sterilitate aproape absolută (W. B. Efroimson, 1939).

De asemenea, s-a constatat că *acțiunea unor iradieri* succesive în timp se cumulează, dacă între ele nu există perioade de timp prea lungi, astfel încît frecvența mutațiilor este aceeași ca în cazul unei singure iradieri cu întreaga doză de radiații. Cercetări ale lui I. A. Herskowitz și S. Abrahamson (1955) au arătat însă că prin tratarea fracționată cu raze X a femelelor de *Drosophila melanogaster* se reduce

procentul de aberaţii cromozomiale, atunci cînd intervalele între două tratamente succesive au fost relativ lungi. Procentul de aberaţii sporeşte considerabil cu mărirea dozei şi cu puterea instalaţiei care emite radiaţii, după cum reiese din datele de mai jos :

| Puterea instalaţiei, în r/minut | Doza de radiaţii în r | Intervalul între două iradieri | Numărul de iradieri | Aberaţii cromozomiale, în % |
|---|---|---|---|---|
| 600 | 2 000 | — | 1 | 5,4 |
| 600 | 2 000 | 8 ore | 2 | 1,5 |
| 1 100 | 1 000 | — | 1 | 1,6 |
| 30 | 1 000 | — | 1 | 0,7 |
| 1 100 | 2 200 | 0—4 minute | 8 | 7,1 |
| 1 100 | 2 200 | 16 minute | 8 | 5,3 |
| 1 100 | 2 200 | 32 minute | 8 | 3,4 |

În atenţia cercetătorilor stă şi problema elucidării specificităţii acţiunii biologice a radiaţiilor ionizante, care se deosebesc prin calitate, lungime de undă şi felul particulelor ionizante. Asemenea studii sînt în curs, rezultatele multora dintre ele relevînd eficacitatea mai mare a neutronilor faţă de toate celelalte radiaţii.

Dintre factorii de mediu care influenţează în mod considerabil rezultatul iradierii, pînă în prezent, cel mai important s-a dovedit a fi *oxigenul,* şi anume, *efectul mutagen al radiaţiilor ionizante creşte proporţional cu cantitatea de oxigen.* Încă din 1947 J. M. Thoday şi J. Read au arătat că anoxia scade numărul mutaţiilor care apar de obicei sub influenţa radiaţiilor. Cele mai interesante cercetări asupra rolului oxigenului în inducerea de mutaţii cu ajutorul radiaţiilor a făcut la *Tradescantia* N. H. Giles şi colaboratorii (1954). Ei au dovedit că prezenţa oxigenului măreşte numărul de aberaţii cromozomiale, el fiind eficient numai cînd se află în celule în timpul iradierii. Introdus în celulă înainte de iradiere sau după aceea, oxigenul nu provoacă nici un efect. Rezultate asemănătoare au obţinut şi R. S. Caldecott şi colaboratorii (1952), studiind acţiunea radiaţiilor X şi a neutronilor rapizi şi termici asupra seminţelor de orz supuse unei atmosfere îmbogăţite în oxigen, dovedind că sensibilitatea plantelor creşte în aceste condiţii faţă de radiaţiile X şi rămîne aproape neschimbată faţă de neutroni. Influenţa oxigenului asupra frecvenţei apariţiei mutaţiilor induse prin iradiere este pusă pe seama formării în prezenţa sa a unui număr mai mare de radicali activi ai apei.

Ţinînd seama de importanţa prezenţei acestor radicali activi în inducerea de mutaţii, s-a constatat că *efectul genetic al iradierii creşte*

*o dată cu sporirea conținutului în apă din țesuturi.* Într-adevăr, această dependență a fost observată mai ales în cazul iradierii cu raze X, constatîndu-se că efectele mutagene sînt mult mai puternice la semințele înmuiate în apă sau în curs de germinare decît la semințele uscate (A. Gustaffson, 1940, L. Ehrenberg, 1955, R. S. Caldecott, 1955 etc.). În cazul iradierii cu neutroni termici, efectul genetic nu se modifică simțitor cu creșterea umidității materialului iradiat. R. S. Caldecott explică acest fapt prin aceea că în semințele ușor umectate, mai mult de 90% din ionizări se refac pe socoteala protonilor și helionilor emiși la captarea neutronilor termici de către azot și bor. În cazul creșterii cantității de apă, raportul dintre conținutul de azot, bor și celelalte elemente ale celulei scade. În aceste condiții, azotul și borul captează mai puțini neutroni termici, iar eficacitatea lor scade.

În ceea ce privește influența temperaturii în inducerea de mutații, rezultatele obținute pînă în prezent sînt contradictorii, unele experiențe atestînd că temperaturile joase măresc efectul mutagen al radiațiilor ionizante, iar autorii lor explică aceasta printr-o solubilitate mai mare a oxigenului la temperaturi scăzute, altele probînd contrariul.

În sfîrșit, *prezența anumitor substanțe chimice poate influența efectul iradierii,* protejînd materialul ereditar față de radiații. Cele mai eficiente din acest punct de vedere s-au dovedit a fi glutationul, cisteina, mercaptoetilamina și altele. Cercetările privind *efectul protector al unor substanțe chimice* s-au extins foarte mult, mai ales pe linia necesității protejării omului de consecințele nefaste ale iradierilor profesionale sau accidentale.

## FOLOSIREA RADIAȚIILOR MUTAGENE ÎN PRACTICĂ

Descoperirea rolului mutagen al radiațiilor a deschis radiogeneticii perspective extrem de vaste din punct de vedere teoretic, a căror finalitate vizează găsirea celor mai eficiente mijloace de a realiza pe această cale organisme cu ereditate modificată și cu importanță practică. Tehnicile elaborate în acest scop urmăresc producerea unui număr cît mai mare de mutații, îndeosebi de mutații progresive, pozitive, constructive, adică mutații favorabile. Ele sînt variate în funcție de factorul mutagen utilizat, specia iradiată, momentul aplicării tratamentului etc. Prima generație obținută în urma tratamentului se notează cu $X_1$ în cazul iradierilor cu raze X, cu $N_1$ în cazul tratamentului cu neutroni sau chiar cu $F_1$ la fel ca în cazul hibrizilor sexuați. Generația a doua se notează cu $X_2$, $N_2$ sau $F_2$ etc. Experiențe consacrate radiomutațiilor au fost efectuate la toate categoriile de viețuitoare și în special la cele de interes practic.

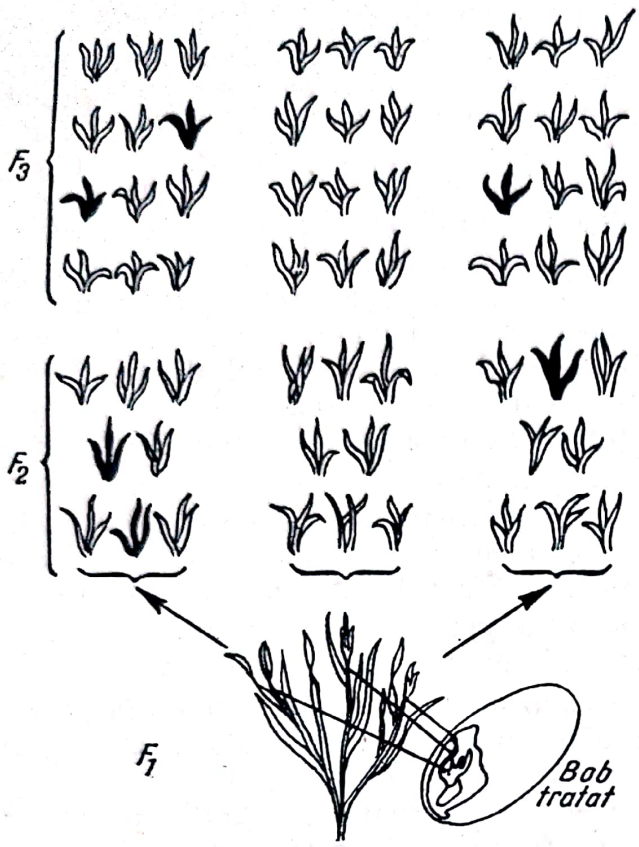



Fig. 151. Apariția de mutante recesive în $F_2$ și $F_3$ la orz.

Deși majoritatea mutațiilor au un caracter mai mult sau mai puțin dăunător, totuși un mic procent, după aprecierea lui A Gustafsson aproximativ 1/1 000, pot fi folosite direct sau indirect în practică. Ținînd seama de acest fapt, este necesară producerea artificială a unui număr foarte mare de mutante, din care apoi pot fi selecționate cele valoroase. La plante s-au obținut rezultate bune, mai ales în ceea ce privește obținerea unor *mutante rezistente la boli și dăunători.* Prin iradiere se pot obține în $X_2$ un număr imens de plante ce pot fi crescute într-un mediu în care este prezent agentul patogen, astfel că mutanta rezistentă supraviețuiește și poate fi foarte ușor selecționată.

W. C. Gregory (1955) a iradiat cu raze Roentgen un mare număr de plante de alune americane *(Arachis hypogea),* astfel că în $X_2$ a avut circa un milion de plante cultivate pe 64 acri. Din acestea au fost selecționate mutante care reprezintă o mare variație de forme morfo-fiziologice, fapt care demonstrează că la plantele autogame de tipul alunelor americane este posibilă mărirea considerabilă a variabilității prin iradiere. Un interes deosebit îl prezintă o mutantă rezistentă la pătarea frunzelor, boală care provoacă pagube mari acestei culturi.

Prin iradiere este posibilă, de asemenea, *inducerea sterilității parțiale a plantelor,* fenomen care în unele cazuri prezintă avantaje economice. De pildă, la vița de vie *(Vitis vinifera)* există o seamă de varietăți valoroase, dar care au ciorchinele atît de compact acoperit cu boabe, încît acestea rămîn mici și uneori are loc chiar o rupere a ciorchinelui. Inducerea sterilității parțiale a florilor prin iradiere face ca boabele de strugure să crească mai mari, iar pericolul ruperii ciorchinelui să fie eliminat. În S.U.A. s-a realizat prin iradierea soiului Perlette o mutantă parțial sterilă, care are boabe mai mari și care a început să fie introdusă în cultură în locul soiului inițial.

La plantele autogame este posibilă prin iradiere *inducerea sterilității totale sau parțiale,* fapt care determină o mărire considerabilă a

polenizării și fecundației încrucișate. Se pot obține astfel pe o cale seminaturală hibrizi în masă.

Un alt domeniu în care s-au obținut rezultate valoroase prin iradiere este cel al *transferului de gene de la o specie la alta.* E. R. Sears (1955) a încrucișat *Aegilops umbellulata* cu *Triticum aestivum* și a obținut hibrizi, care în $F_1$ au fost iradiați. Datorită tratamentului cu iradiații au avut loc rupturi de cromozomi și ca urmare s-au realizat numeroase translocații. În urma segregării au apărut plante de grîu care prezentau unele caractere de la *Aegilops umbellulata,* în special rezistență față de boli. A fost astfel posibil transferul de mici fragmente de cromozomi și respectiv de gene de la o specie la alta.

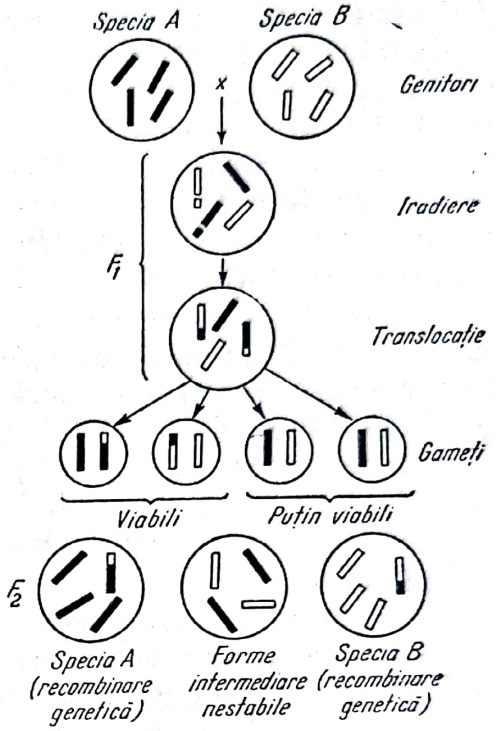



Fig. 152. Transferul de fragmente de cromozomi și respectiv de gene de la o specie la alta prin iradierea hibrizilor din $F_1$.

La plantele ce se înmulțesc vegetativ prin iradiere este posibilă *inducerea de mutații somatice, adevărate variații mugurale,* din care se pot apoi selecționa soiuri noi. De pildă, în cîmpul gamma de la Brookhaven National Laboratory s-au plantat mai multe soiuri de pomi fructiferi care au fost supuse iradierii cronice unul sau mai mulți ani. La aceste plante au apărut ulterior numeroase variații mugurale, din care unele reproduse vegetativ prin altoire prezintă importanță practică. Astfel, la piersici s-au obținut mutante somatice care sînt mai timpurii sau mai tardive ca materialul inițial, mutante somatice care au fructe pubescente și altele lipsite complet de pubescență, la meri au apărut variații mugurale cu fructe de altă culoare etc.

La plantele ornamentale ce se înmulțesc vegetativ este, de asemenea, posibilă inducerea unor mutante somatice cu flori de altă culoare, mărime etc. Astfel la garoafă *(Dianthus caryophyllus)* prin iradierea varietății cu flori roșii William Sim cu radiații gamma emise de $Co^{60}$ la Brookhaven National Laboratory s-au obținut mai multe mutante somatice, din care 3 albe și 3 roz-deschis cu valoare economică. Prin iradierea varietății cu flori albe White Sim au apărut atît plante cu flori roșii complet cît și plante care prezentau concomitent ramuri cu flori albe și ramuri cu flori roșii. Cercetările citologice efectuate de Y. Sagawa și G. A. L. Mehlquist (1957) au demonstrat că soiul *White Sim* este de fapt alcătuit din țesuturi himerale, la care culoarea albă a florilor este determinată de un singur strat de celule

din epidermă. Ţesuturile interioare au din punct de vedere genetic capacitatea de a determina apariţia de flori roşii. Dacă acest soi cu ţesuturi amestecate se înmulţeşte prin seminţe dă naştere la descendenţi cu flori roşii, iar dacă se înmulţeşte vegetativ dă naştere la plante cu flori albe. Prin iradiere se poate distruge stratul de celule din epiderma mugurilor florali şi ca urmare planta formează flori roşii. Această mutantă somatică atît la reproducerea sexuată cît şi vegetativă va da naştere la descedenţi cu flori roşii.

Ţinînd seama de importanţa teoretică şi mai ales practică a obţinerii de radiomutanţi, în diferite staţiuni experimentale din lume au fost amenajate *cîmpuri speciale de iradiere a plantelor cu radiaţii gamma*. Primul de acest fel a fost construit la Brookhaven (S.U.A.) şi constă dintr-o sursă de $Co^{60}$ plasată în centrul unei suprafeţe de aproximativ 80 ari, plantele fiind cultivate concentric în jurul sursei. Alte cîmpuri de iradiere construite pe acelaşi principiu se găsesc astăzi în diverse ţări.

Studiile efectuate în scopul obţinerii mutantelor artificiale la cereale au urmărit folosirea unor soiuri de mare productivitate, dar care prezentau diverse deficienţe în ceea ce priveşte rezistenţa la cădere, la ger, la secetă, boli, dăunători etc. În 1959, A. Möes publică rezultatele experienţelor sale, în care a iradiat boabe negerminate de orz, plasîndu-le cu embrionul spre sursa de iradiere, reprezentată printr-un aparat Röentgen care funcţiona sub o tensiune de 30 KV şi o intensi-

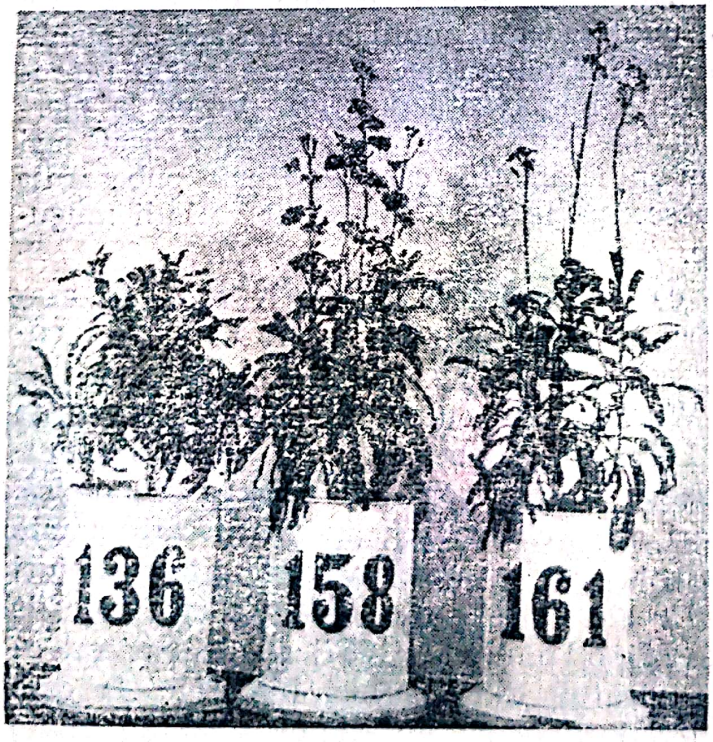



Fig. 153. Plantă normală de *Mathiola annua* (stînga) şi mutante induse prin iradiere cu radiaţii gamma (dreapta) (original).

tate de 20 mA. Urmărind apariția mutantelor în $X_2$ și $X_3$, el a reușit să selecționeze din materialul iradiat linii valoroase comparativ cu soiul original în ceea ce privește rezistența la secetă, la cădere, înfrățirea, mărimea și calitatea boabelor etc.

În țara noastră, A. Priadcencu și colaboratorii (1960) au studiat plante de *Triticum aestivum* din soiul A 15 tratate cu raxe X în doze de 20 000 r și 25 000 r și cu neutroni termici în doze de $9{,}07\times10^{12}/cm^2$ și $1{,}13\times10^{13}/cm^2$. În urma tratamentului au apărut modificări în habitusul plantelor, privind perioada de vegetație, rezistența la boli, la cădere, fertilitatea, productivitatea etc. Din semințele tratate cu o doză de $1{,}13\times10^{13}/N^{th}/cm^2$ s-au obținut în $X_3$ un număr de *49 mutante*, din care 67,4% sînt mai productive ca martorul, iar 14,3% din mutante depășesc în producție soiul martor cu peste 20%.

La stațiunea de genetică de la Svalöf, J. Mac Key (1954) a tratat cu raxe X în doze de10 000—20 000 r semințe negerminate de grîu de toamnă, grîu de primăvară și orz, obținînd numeroase mutante, din care unele cu importanță practică.

La *Pisum sativum* și *Vicia sativa*, O. E. Gelin (1954) a iradiat semințe înmuiate în prealabil în apă timp de 24 de ore cu raze X în doze de 15 000 r. El a obținut diferite mutante clorofiliene, cu habitusul schimbat și cu o perioadă de vegetație diferită. La mazăre în $X_2$ s-a ales o mutantă valoroasă, care a devenit *linia 700*. Această linie are un număr mediu sporit de boabe la o plantă, mai multe ramificații ale tulpinii și dă o producție mai mare decît soiul *Kloster* din care a provenit. Din iradierea semințelor la mazărea furajeră din soiul *Parvus* a apărut în $X_4$ o mutantă de tip „gigas", care depășește cu 30% în dimensiuni soiul inițial. De asemenea, greutatea a 1 000 de boabe era de 234 g la soiul *Parvus* și de 342 g la mutanta „gigas".

| Varianta | Dimensiunea păstăilor, în mm | | |
|---|---|---|---|
| | lungime | lățime | grosime |
| Parvus | 65 | 11 | 11 |
| Mutanta „gigas" | 82 | 14 | 13 |

În R.D.G., M. Zacharias (1956) a obținut numeroase mutante la *Glycine soya* prin tratarea semințelor negerminate cu doze variabile de raze X. În $X_3$ a apărut o mare variabilitate în ceea ce privește perioada de vegetație, numărul de ramificații, mărimea tulpinii, forma și mărimea frunzelor și a păstăilor, mărimea și culoarea boabelor etc.

Din materialul iradiat s-au obținut în $X_3$ un număr de *427 de mutante,* care se repartizează astfel la diferite doze de raze $X$ :

| 6 000 r 1 560 linii $X_1$ | | 8 000 r 1 505 linii $X_1$ | | 10 000 r 1 095 linii $X_1$ | | 12 000 r 784 linii $X_1$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nr. de mutante | % | Nr. de mutante | % | Nr. de mutante | % | Nr. de mutante | % |
| 134 | 8,59 | 152 | 10,11 | 78 | 7,01 | 63 | 7,89 |

Variabilitatea mutantelor depășește considerabil variabilitatea care se observă la diferite soiuri existente în cultură și sortimentul mondial, astfel că ele reprezintă un material valoros de selecție.

E. E. Down și A. L. Andersen (1956) au iradiat cu raze X boabe de *Phaseolus vulgaris* și cîteva din mutantele valoroase obținute au fost încrucișate cu alte soiuri. Din materialul hibrid a fost selecționat soiul Sanilac, care este mai productiv și mai precoce cu 6 zile decît soiul *Mitschelit* cultivat în regiunea Michigan unde s-au efectuat experiențele.

| Soiul | Recolta, în q/ha | | | Nr. de zile pînă la înflorire | Nr. de zile pînă la recoltare |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1953 | 1954 | 1955 | | |
| *Mitschelit* (mt) | 18,02 | 22,30 | 20,77 | 53 | 92 |
| *Sanilac* | 35,76 | 20,38 | 25,48 | 47 | 86 |

Soiul Sanilac este rezistent la boli și are o tulpină erectă putînd fi mai bine recoltat mecanizat. De aceea soiul Sanilac a înlocuit în cultură soiul Mitschelit.

H. Stubbe (1959) a obținut artificial cu ajutorul razelor X peste *350 de mutații* la specia de tomate cultivată *Lycopersicum aesculentum* și peste *250 de mutații* la specia sălbatică *Lycopersicum pimpinellifolium.* S-a reușit astfel să se realizeze un sortiment extrem de variat de forme noi, atît în ceea ce privește diferitele caractere morfologice cît și însușirile fiziologice și biochimice.

L. Lefort (1959) a studiat acțiunea radiațiilor ionizante asupra plantelor de tomate din soiul San Marzano. S-au folosit pentru iradiere doze variate de raze X și neutroni termici, iar mutantele clorofiliene obținute au fost studiate în special în ceea ce privește compoziția pigmenților și structura cloroplastelor. În primul rînd s-a constatat că razele X, în doze de 15 000—20 000 r cu care se tratează semințele negerminate, constituie un agent mutagen foarte eficace. Din totalul mutațiilor obținute, 44,3% sînt mutații clorofiliene, dar din acestea

60—70% sînt de tip „viridis" și numai 4—5% de tip „albina". Aceasta deosebește considerabil mutantele induse la tomate de cele induse la orz, unde 40—50% din mutații sînt de tip „albina".

P. Dommergues (1960) a studiat efectul mutagen al unor radiații ionizante și substanțe chimice la *Lactuca sativa*, soiul *Merveille des quatre saisons*. Tratamentele s-au efectuat asupra semințelor negerminate cu raze gamma emise de $Co^{60}$ sau prin imersia lor timp de 24 de ore la temperatura de 23°C în soluții de substanțe mutagene. Ca rezultat au apărut încă în $F_1$ *plante himere și plante cu fasciații.*

| Agenți mutageni | Doza | % de himere | % de plante cu fasciații |
|---|---|---|---|
| raze gamma | 10 000 r | 0,086 | 2,08 |
| metansulfonat de clordietil | 1 la ‰ | 0,37 | 4,74 |

La *Sinapis alba*, G. Andersson și G. Olsson (1954) au selecționat din materialul iradiat cu raze X în doză de 35 000 r o mutantă valoroasă, care a devenit soiul Primex. Acest soi depășește în producția de semințe și de ulei la hectar soiul Svalöf care se cultivă în Suedia. Iată rezultatele obținute în perioada 1944—1952 :

| Varianta | Nr. de experiențe | Soiul Svalöf | Soiul Primex | Diferențe între ele |
|---|---|---|---|---|
| Recolta de semințe, în kg/ha | 81 | 1846 | 1926 | + 78 ± 14,0 |
| % de ulei în semințe | 62 | 29,86 | 30,43 | + 0,75 ± 0,13 |
| Cantitatea de ulei, în kg/ha | 62 | 496 | 530 | + 34 ± 5,2 |

W. Hoffmann și V. Zoschke (1955) au iradiat cu raze X semințe de *Linum usitatissimum* din 4 soiuri, cultivate pentru fibre sau pentru ulei. Tratamentul s-a efectuat cu un aparat Röentgen folosit în mod obișnuit în instituții medicale. Dozele utilizate au fost între 10 000 și 60 000 r. Într-o altă serie de experiențe, semințele a două soiuri au fost iradiate înaintea tratamentului timp de 24 de ore într-o soluție de 0,5% săruri ale unor metale grele. S-au folosit în acest scop Ba $(NO_3)_2$, Pb $(NO_3)_2$ și U $(NO_3)_2$. În total s-au obținut *523 de mutații* care se deosebesc de forma inițială prin culoarea și forma florilor, culoarea staminelor, culoarea și greutatea semințelor, lungimea fibrei, lungimea pe-



Scanned with OKEN Scanner

rioadei de vegetație, cantitatea de ulei în semințe etc. Majoritatea acestor mutante prezintă interes practic, unele putînd fi folosite direct pentru selecție, iar altele ca genitori în lucrările de ameliorare.

Pentru inducerea de mutații la cartof, A. Hagberg și N. Nybom (1954) au folosit raze X și $P^{32}$. Pentru tratarea cu raze X s-a utilizat următoarea tehnică : tuberculii au fost secționați longitudinal în două părți egale, o jumătate fiind iradiată cu 5 000—10 000 r, iar cealaltă servind ca martor. La tratarea cu $P^{32}$ s-a utilizat o altă tehnică : cu ajutorul unui burghiu s-a făcut în fiecare tubercul cîte un orificiu rotund, în care s-au introdus cîte 5 $cm^3$ de soluție conținînd 31—500 microcurie de $P^{32}$, iar la tuberculii martor s-a introdus apă de robinet. După aceea s-a astupat orificiul cu o bucată de tubercul din cea care a fost scoasă cu ajutorul burghiului. După ce s-au lăsat astfel mai multe zile, tuberculii au fost puși la germinat și apoi au fost plantați pe teren.

În scopul inducerii mutațiilor *la pomii fructiferi au fost elaborate tehnici speciale de tratament.* Cercetări în această direcție au fost efectuate de către C. J. Bishop (1954), M. Zwintscher (1959), K. Gröber (1959), P. Dommergues (1960) etc. Tratarea cu radiații ionizante se aplică la ramuri cu cîțiva ochi în timpul perioadei de repaus după care materialul se altoiește pe portaltoi obișnuiți. Pentru tratarea cu izotopi radioactivi, cum sînt $P^{32}$ și $S^{35}$, se injectează în tulpini, în ramuri sau în muguri, primăvara înainte de începerea vegetației, soluțiile cu izotopi.

K. Gröber (1959) a iradiat cu doze de raze X cuprinse între 1 000 și 7 500 r un număr de circa 3 000 de ramuri de măr cu 4—5 ochi și circa 2 000 de ochi separați. La ramuri au fost iradiați numai 2 muguri la vîrf, iar restul au fost protejați de radiații prin acoperirea cu plăci de plumb de 66 mm grosime. Ramurile tratate au fost altoite prin copulație în coroana unor meri de 7—8 ani. Tratarea cu raze X s-a făcut la patru soiuri de măr : Weisser Klarapfel, James Grieve, Ontario și Gravensteiner. La materialul tratat au apărut numeroase mutante, care prezintă modificări privind perioada coacerii fructelor, forma, mărimea și culoarea fructelor etc. Un interes practic deosebit îl prezintă apariția unor *mutante care au fructe de culoare roșie* la 4,8% din mugurii tratați la soiul Weisser Klarapfel, care are fructe de culoare alb-gălbuie.

P. Dommergues (1960) a iradiat în 1958 cu doze de 2 000—8 000 r de raze gamma emise de $Co^{60}$ ramuri de păr de un an, cu 5 ochi. Tratamentul s-a efectuat primăvara, înainte de începerea vegetației, la 3 ochi superiori, ceilalți doi de la baza ramurii fiind protejați cu plăci de plumb. În 1959 s-au tratat în mod omogen ramuri cu 8 ochi cu o doză de 6 000 r. După tratament, ramurile au fost altoite pe portaltoi obișnuiți. Cercetările lui P. Dommergues efectuate la soiul de păr *Max Red Barlett* caracterizat printr-o pigmentație roșie a frunzelor, a lemnului tînăr și a fructelor, au dus la apariția unui număr mare de himere la ochii tratați. Aceste modificări au apărut la 25% din ochii tratați în 1958 și la 14,5% la cei tratați în 1959.

Scanned with OKEN Scanner

Din numeroasele experiențe de inducere a mutațiilor la plante cu ajutorul radiațiilor s-au realizat soiuri noi, din care cele mai reușite sînt considerate următoarele :

— mușțarul alb *Primex* (Suedia, 1950) ;
— tutunul *Chlorina mutant* (Indonezia, 1950) ;
— fasolea *Shafer's Universal* (Germania, 1950) ;
— rapița de vară pentru ulei *Regina II* (Suedia, 1953) ;
— mazărea furajeră *Weibull Stralart* (Suedia, 1957) ;
— fasolea *Sanilac* (Michigan, 1957) ;
— orzul *Pallas* (Suedia, 1950) ;
— arahida *N.C. 4 X* (Carolina de nord, 1959) ;
— ovăzul *Floral* (Florida, 1960).

Desigur că de la obținerea mutațiilor pînă la realizarea soiului valoros este o cale lungă și grea. Este necesară o selecție strictă și meticuloasă. În cazul în care mutantele deși posedă calități deosebite, dar totuși nu corespund în întregime, pot fi folosite ca genitori și încrucișate între ele sau cu alte soiuri. În prezent se extinde utilizarea radiațiilor în genetica aplicată la plante în vederea obținerii de soiuri noi.

De asemenea, s-au întreprins cercetări numeroase de iradiere a animalelor, dintre ele evidențiindu-se în special lucrările lui Hertwig, Russel, Snell, Carter (șoareci), M. A. Arsenieva și G. G. Tiniakov (maimuțe) etc. Asemenea studii nu au urmărit în mod special obținerea unor mutante de interes economic, ci au fost inițiate îndeosebi în cadrul cercetărilor care urmăreau descoperirea unor mecanisme ale radiomutațiilor a căror extindere teoretică și asupra speciei umane poate furniza informații importante, utile pentru protecția genetică o omului.

Prin iradiere s-au realizat *translocații cromozomiale cu importanță practică.* Astfel, cercetătorul japonez Tazima a descoperit la viermele de mătase *(Bombyx mori)* o mutantă provenită în urma unei translocații naturale, și anume un fragment din cromozomul II era atașat la cromozomul Y. După cum se știe, la viermele de mătase femela este X Y, iar masculul X X. Datorită translocației a avut loc transferul unei gene (sable) care determină apariția unor pete pe pielea larvelor. De aceea femelele acestei mutante puteau fi ușor deosebite de masculi care erau lipsiți de pete. Acest fapt prezintă importanță pentru crescătorii de viermi de mătase, deoarece masculii produc mai multă mătase decît femelele. Cu toate acestea, mutanta respectivă apărută prin translocație naturală nu putea fi folosită în practică din cauză că atașarea fragmentului de cromozom la cromozomul Y determina un dezechilibru parțial al întregului organism. De aceea Tazima a iradiat cu raze X un mare număr de indivizi, reușind să provoace numeroase rupturi de cromozomi. Printre altele, el a identificat indivizi la care s-a eliminat fragmentul suplimentar de cromozom, păstrîndu-se numai o mică parte cu gena sable. În acest fel mutanta respectivă a devenit utilă pentru crescătorii de viermi de mătase.

Scanned with OKEN Scanner

O altă translocație apărută în urma iradierii constă în atașarea unui mic fragment de cromozom — care poartă o genă ce determină ca ouăle să capete culoarea neagră — la cromozomul Y. Ca urmare, *ouăle ce vor da naștere la masculi sînt albe, iar cele ce vor da naștere la femele sînt negre.* Cu ajutorul unei celule fotoelectrice, ouăle pot fi separate după culoare și crescuți numai masculii care sînt mai productivi.

Astfel de cercetări au fost efectuate și în Uniunea Sovietică de V. A. Strunikov la Taşkent, el reușind să realizeze marcarea genetică a masculilor și femelelor, astfel că masculii care dau o producție de mătase naturală cu 30% mai mare ca a femelelor pot fi ușor separați încă din faza de ou.

Lucrările din ultimii 15 ani consacrate producerii de mutații la *microorganisme* au cuprins în prima etapă experiențele prin care se căuta obținerea unor tulpini mai productive de microorganisme industriale prin aplicarea intensă a celor mai variați factori mutageni. În a doua etapă s-au dezvoltat îndeosebi cercetările care urmăreau descoperirea legilor inducerii variabilității la microorganisme cu importanță practică.

În ceea ce privește obținerea caracterelor economico-utile la microorganisme în urma tratării cu factori mutageni este importantă apariția plus și minus variantelor. S-a constatat că sub acțiunea unor doze diferite de radiații ionizante și neionizante proporția plus — variantelor și minus — variantelor apărute este și ea diferită. S. I. Alihanian și F. S. Klepikova constată în 1957 că sub acțiunea dozei de 80 Kr (raze X) numărul plus — variantelor de *Actinomyces subtropicus* crește simțitor, atingînd valoarea maximă în cazul iradierii cu 320 Kr, iar prin iradierea cu doze cuprinse între 320 și 640 Kr crește numărul minus-variantelor. Rezultate similare s-au obținut și în alte experiențe. Acțiunea diferențiată a factorilor mutageni care în doze mari determină predominarea minus-variantelor, iar în doze mici a plus- variantelor pledează în favoarea existenței unei anumite specificități a variabilității induse de agenții mutageni.

Un număr însemnat de mutante au fost induse cu raze X la *Neurospora crassa* (N. H. Giles și colaboratorii, 1955), la bacterii (Demerec și Sames, 1960) și la drojdia de bere (*Gutz*, 1961). Interesante sînt, de asemenea, cercetările de obținere a unor bacterii rezistente la diverși fagi. Astfel, M. Demerec și R. Latarjet (1946) prin tratarea bacteriei *Escherichia coli* cu raze X și ultraviolete a obținut mutante rezistente la bacteriofagul T 1.

Din noianul acestor cercetări se evidențiază în primul rînd obținerea unor *tulpini foarte productive de penicilină*. Activitatea inițială a tulpinii producătoare de penicilină (1951 B 25) era de circa 50 unități internaționale. Studii intense întreprinse între anii 1942 și 1952 prin utilizarea radiațiilor au dus la crearea tulpinilor care produc mai mult de 3 000 unități penicilină. În același timp s-au obținut mutante care nu produc pigment galben-auriu, ceea ce a înlesnit într-o mare măsură puri-

ficarea chimică a penicilinei. S-au realizat, de asemenea, tulpini producătoare de streptomicină, care dau în loc de 200 de unități 2 000 de unități streptomicină.

Una din sarcinile cele mai importante care stau astăzi în fața radiogeneticienilor microbiologi și virusologi este obținerea radiomutantelor la virusuri și bacterii patogene. La acestea se adaugă cercetările menite să ducă la obținerea unor vaccinuri vii constituite din mutante capabile să provoace imunizarea și a unor mutante mai productive în microbiologia industrială.

## PERSPECTIVE ȘI LIMITE ÎN RADIOGENETICĂ

Perspectivele pe care le oferă utilizarea radiațiilor în scopul obținerii unor organisme noi, cu valoare economică, sînt extrem de mari, deși unii geneticieni au făcut aprecieri pesimiste în legătură cu aceste perspective, mai ales datorită imposibilității actuale de obținere a mutațiilor dirijate. Este adevărat că nivelul cunoștințelor actuale nu permite realizarea unor mutații dirijate, apariția mutațiilor induse avînd un caracter relativ „întîmplător".

Utilizarea radiațiilor a oferit cercetătorilor în primul rînd o tehnică extrem de eficace de sporire a frecvenței mutațiilor. Rezultatele pozitive realizate pînă în prezent atestă o dată în plus faptul că inducerea radiomutațiilor constituie o cale importantă pentru realizarea rapidă a unui material inițial valoros pentru selecție.

O serie de greutăți existente în prezent în munca de obținere a mutațiilor decurge și din insuficiența unor cunoștințe teoretice legate îndeosebi de mecanismul intim de acțiune la nivel celular și molecular al radiațiilor ionizante. O descifrare amănunțită va deschide calea realizării mutațiilor dirijate. Există, de asemenea, date insuficiente și contradictorii privind specificitatea acțiunii diverselor tipuri de radiații și se mai fac încă tatonări în ceea ce privește dozele cele mai potrivite de iradiere. Extinderea, an de an, a laboratoarelor în care se studiază problemele de bază ale radiogeneticii și rezultatele valoroase obținute de cercetători confirmă optimismul declarat al unor geneticieni de prestigiu mondial, ca H. J. Müller, H. Stubbe, R. S. Caldecott, A. Gustafsson, A. Müntzing, N. P. Dubinin și a multor altora. Cercetările noi și rezultatele frumoase obținute au contribuit la dezvoltarea studiilor de radiogenetică și au netezit calea succeselor viitoare în acest domeniu.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL XIV

# BAZELE BIOCHIMICE ALE EREDITĂȚII

În anul 1908 medicul englez Garrod a publicat lucrarea *Erori genetice de metabolism* în care prezintă cercetările sale privind biochimia unor maladii metabolice ereditare umane ce afectau lanțul biochimic al fenilalaninei. Era prima lucrare de genetică ce studia ereditatea la nivelul reacțiilor biochimice specifice materiei vii. Ulterior, alte cercetări și descoperiri în aceeași direcție au dezvoltat și aprofundat această cale nouă în genetică. Cea mai însemnată descoperire o constituie fără îndoială faptul că macromoleculele de acizi nucleici au rolul genetic de a înregistra biochimic, conserva și transmite informația ereditară de la o celulă la alta, de la un individ la altul și de la ascendenți la descendenți. În ultimă analiză acizii nucleici sînt aceia care asigură legătura ereditară materială dintre generații.

Pentru prima oară, în 1939, la al VII-lea Congres Internațional de Genetică de la Edinburgh, Astbury emite ipoteza că acizii nucleici ar avea rolul de matriță pentru sinteza proteinelor, iar Caspersson susține că acizii nucleici sînt constituenți de bază ai sistemelor ce asigură autoreproducerea materiei vii. Această ipoteză devine o realitate în 1944, cînd O. T. Avery, C. M. Mc. Leod și M. Mc. Carty publică lucrarea: *„Studii privind natura chimică a substanței ce induce transformarea pneumococilor"*, în care se descoperă experimental faptul că acidul dezoxiribonucleic (A D N) de la un tip de pneumococi este capabil să inducă modificări ereditare dirijate la un alt tip de pneumococi. S-au pus astfel bazele cercetărilor de biochimie a eredității și ale unei noi științe *genetica moleculară* ce avea să revoluționeze un întreg domeniu al biologiei. Cercetările de genetică moleculară au drept scop studiul eredității la nivel subcelular și molecular, căutînd să descopere mecanismele intime care stau la baza autoreproducerii materiei vii și implicit ale procesului de transmitere ereditară a caracterelor.

Scanned with OKEN Scanner

## TRANSFORMAREA GENETICĂ

În anul 1928 bacteriologul englez E. Griffith a început o serie de experienţe la pneumococi *(Diplococus pneumoniae)* ale căror rezultate au permis ulterior descoperirea rolului genetic al acizilor nucleici. După cum se ştie, la pneumococi există mai multe tipuri de indivizi : S (smooth), care sînt netezi, au o capsulă formată dintr-un polizaharid şi sînt virulenţi, şi „R" (rough), care sînt rugoşi, nu au capsulă şi sînt nevirulenţi. Din cauză că la tipul S capsula poate fi formată din diferiţi polizaharizi, există în total 90 de tipuri de pneumococi : S I, S II, S III etc. S-a constatat că aproximativ una la 10 000 000 celule de pneumococi S se transformă spontan prin mutaţie în tipul R. De aceea şi la pneumococii fără capsulă există mai multe tipuri de indivizi : R I, R II, R III etc. după tipul S din care provin.

E. Griffith a injectat la şoareci un mic număr de pneumococi vii, nevirulenţi, de tip R II, împreună cu un număr mare de pneumococi de tip S III, care fuseseră în prealabil omorîţi prin căldură. Cu surprindere el a constatat că o parte din şoarecii de experienţă au murit de pneumonie şi că din aceste animale au putut fi separaţi atît pneumococi R II cît şi pneumococi S III. Aceasta înseamnă că tipul R II s-a transformat în S III. După cum este cunoscut însă, dacă ar fi avut loc o mutaţie, tipul R II ar fi dat naştere la mutante S II şi în nici un caz la S III. Un fapt foarte important ce trebuie subliniat este că pneumococii de tip S III obţinuţi din transformarea celor de tip R II sînt ca-

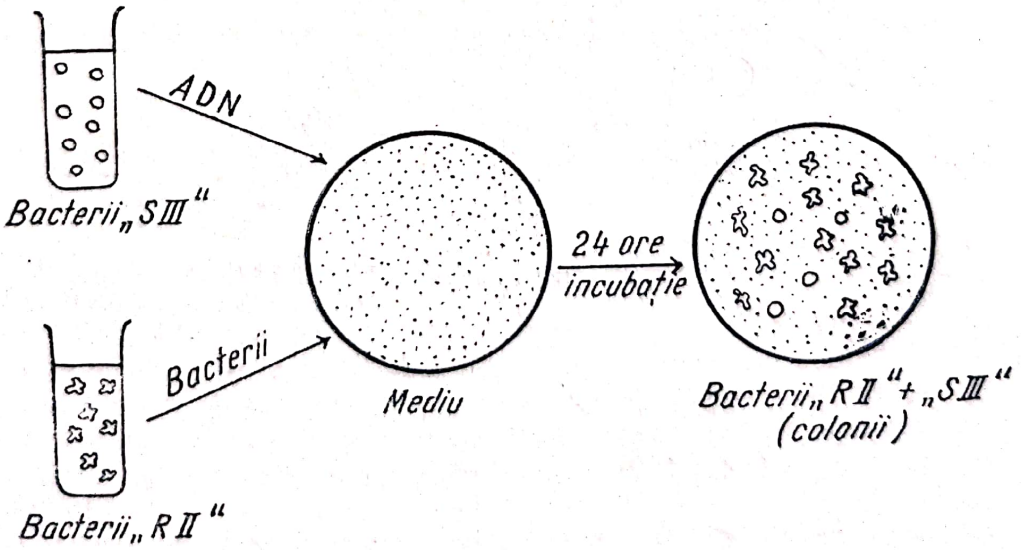



Fig. 154. Schema experienţei lui E. Griffith la bacterii.

pabili să reproducă tipul respectiv, adică transmit la descendenţi caracterele şi însuşirile lor.

Mai tîrziu, în anul 1937, experienţele acestea au fost confirmate de M. H. Dawson şi R. H. P. Sia, care au reuşit in vitro să transforme pneumococii necapsulaţi şi nevirulenţi de tip R I, în pneumococi virulenţi şi capsulaţi de tip S III, prin cultivarea lor pe un mediu la care s-a adăugat un lizat acelular al acestui din urmă tip.

## ADN AGENT TRANSFORMATOR AL EREDITĂŢII

Multă vreme, cauza transformării pneumococilor in vivo şi in vitro a rămas necunoscută. În anul 1944 un grup de cercetători americani format din O. T. Avery, C. M. Mac Leod şi M. Mac Carty şi-au pus problema identificării chimice a substanţei care determină transformarea pneumococilor avirulenţi în pneumococi virulenţi. În acest scop, ei au extras acid dezoxiribonucleic (A D N) de la pneumococii de tip S III şi l-au introdus în mediul de cultură al pneumococilor R II. S-a constatat că printre pneumococii R II apare un mic număr de celule de tip S III, dovedindu-se astfel că agentul transformator este A D N-ul de la tipul donator. Ca şi în experienţele mai vechi ale lui E. Griffith, pneumococii transformaţi transmit la descendenţi caracterele respective.

Este interesant de remarcat că aceste experienţe, devenite „clasice", ale lui O. T. Avery şi colaboratorii, au putut fi reproduse pe alte

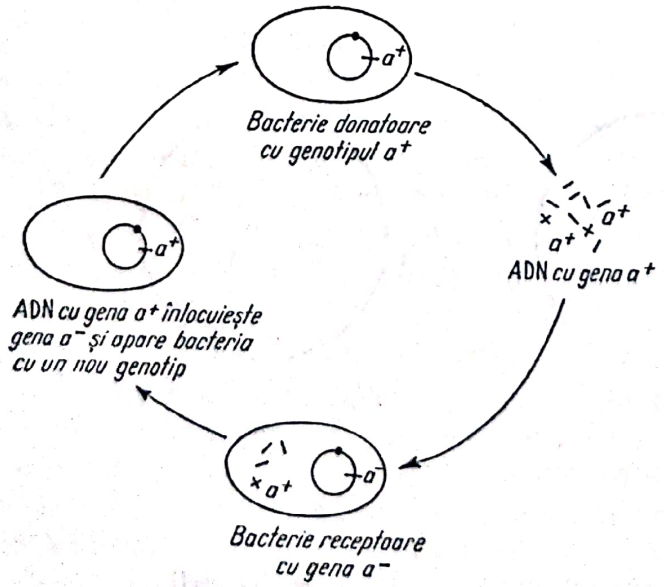



Fig. 155. Reprezentarea schematică a transformării genetice cu ajutorul A D N la bacterii.

tipuri de microorganisme, după cum reiese din tabelul de mai jos, efectuîndu-se totodată și un studiu cantitativ al proporției în care se trans-

**SPECIILE BACTERIENE LA CARE S-A OBȚINUT EXPERIMENTAL TRANSFORMAREA GENETICĂ CU AJUTORUL ADN (După Ravin, 1961)**

| | |
|---|---|
| *Diplococcus pneumoniae* | *Agrobacterium tumefaciens* |
| *Streptococcus viridans* | *Agrobacterium radiobacter* |
| *Streptococcus sbe* | *Agrobacterium rubi* |
| *Streptococcus grupul H* | *Xanthomonas phaseoli* |
| *Hemophilus influenzae* | *Bacillus subtilis* |
| *Hemophilus parainfluenzae* | *Bacillus licheniformis* |
| *Hemophilus suis* | *Rhizobium sp.* |
| *Neisseria meningitidis* | *Staphylococcus aureus* |
| *Neisseria sicca* | *Shigella paradysenteriae* |
| *Escherichia coli, K-12* | *Salmonella typhimurium* |

formă microorganismele respective. În acest sens pot fi citate experiențele de transformare a pneumococilor sensibili la penicilină (pen-s) și la streptomicină (str-s), în pneumococi rezistenți la unul sau la ambele antibiotice (pen-r și respectiv str-r). Rezultatele obținute sînt prezentate în tabelul de mai jos :

| Tipul donator de A D N | Tipul receptor de A D N | Proporția în care s-a realizat transformarea |
|---|---|---|
| pen-r | pen-s | $1 : 10^2$ (pen-r) |
| str-r | str-s | $1 : 10^2$ (str-r) |
| pen-r, str-r | pen-s, str-s | $1 : 10^4$ (pen-r, str-r) |

După cum se poate remarca, inducerea rezistenței pneumococilor la penicilină și la streptomicină s-a realizat la 1/100 din celulele tratate cu A D N de la tipul rezistent, iar inducerea concomitentă a rezistenței la ambele antibiotice s-a realizat la 1/10 000 din celule. Aceasta arată că legitatea transformării pneumococilor se manifestă sub forma hazardului, șansa combinării celor două rezistențe — independente una de alta — fiind egală cu produsul probabilității lor separate (1/100×1/100 = = 1/10 000).

O problemă care a suscitat numeroase discuții a fost aceea dacă agentul transformator este într-adevăr A D N-ul și dacă nu cumva im-

purităţile pe care le conţinea preparatul de A D N (proteine, substanţe imunologic active, acizi ribonucleici etc.) contribuie la transformarea unui tip de microorganisme în altul. Cercetările efectuate de S. Zamenhof, G. Leidy, S. Greer şi E. Hahn (1957) la *Hemophilus influenzae* a reuşit să pună pe deplin în evidenţă că proteinele conţinute de preparatul de A D N şi care reprezentau numai 0,02% nu pot constitui agentul transformator. Ei au calculat că pentru a transforma o celulă de *Hemophilus influenzae* ar fi necesară o cantitate de $10^{-8}$ g; dacă se ţine seama că proteinele reprezintă numai 0,02% din cantitatea de A D N, înseamnă că în preparat se găseşte mai puţin de o moleculă de proteină de greutate moleculară $10^{-6}$. Desigur că nu se poate atribui unei cantităţi de proteine mai mici decît o moleculă rolul de agent transformator.

În ceea ce priveşte cantitatea de A D N necesară pentru transformarea genetică, s-a constatat experimental la *Hemophilus influenzae* că sînt necesare cam 100—150 molecule de A D N de la o tulpină rezistentă la streptomicină pentru transformarea unei celule de la o tulpină sensibilă.

Un alt argument în sprijinul tezei că agentul transformator este A D N îl constituie faptul că prin acţiunea dezoxiribonucleazei care depolimerizează A D N-ul, capacitatea sa transformatoare se pierde total.

Pentru a verifica dacă agentul transformator este într-adevăr A D N-ul, A. Hershey şi M. Chase (1952) au efectuat o seamă de experienţe foarte interesante la bacteriofagii care infectează bacteria *Escherichia coli*. Bacteriofagul T 2, de pildă, are o alcătuire relativ simplă, fiind format dintr-un „cap" şi o „coadă". În interiorul capului se află A D N, iar restul este reprezentat de proteine. Bacteriofagii sînt capabili să se reproducă exclusiv în interiorul bacteriilor. La un moment dat bacteriofagul T 2 este adsorbit la suprafaţa bacteriei de care se prinde cu vîrful cozii. După aceea A D N-ul bacteriofagului este „injectat" prin coadă în bacterie, unde într-un interval de cîteva minute se formează cîteva sute de bacteriofagi noi, iar bacteria este lizată. Studiul procesului de infecţie arată că A D N-ul bacteriofagului pătruns în interiorul bacteriei manifestă atît o activitate autocatalitică, fiind capabilă să se autosintetizeze pe baza „materiei prime" existente în celulă, cît şi o activitate heterocatalitică, determinînd sinteza proteinelor de tip propriu pe baza aminoacizilor liberi din celula bacteriană sau care devin liberi prin hidroliza proteinelor acesteia. Aceasta înseamnă că ADN-ul bacteriofagului are capacitatea de a se înmulţi cantitativ în interiorul bacteriei şi că totodată el poartă „informaţia ereditară" a sintezei proteinelor de tip propriu. Problema numărul unu a tabloului procesului de infecţie a bacteriei prezentat mai sus este următoarea : pe ce bază se afirmă că în interiorul bacteriei pătrunde exclusiv A D N-ul bacteriofagului şi nu pătrund şi proteine ?

A. Hershey şi M. Chase (1952) şi-au propus să verifice acest lucru cu ajutorul izotopilor radioactivi. În acest scop, ei au culti-

Scanned with OKEN Scanner

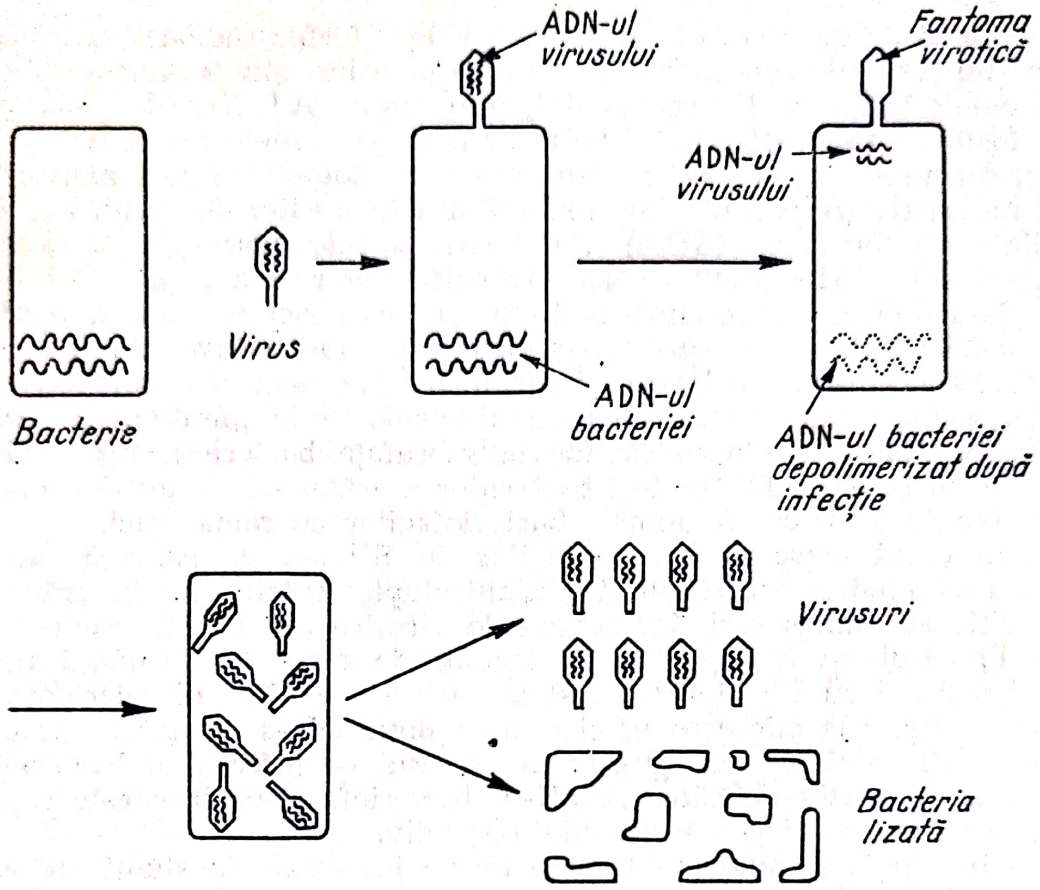



Fig. 156 a. Infecția bacteriei de către virus.

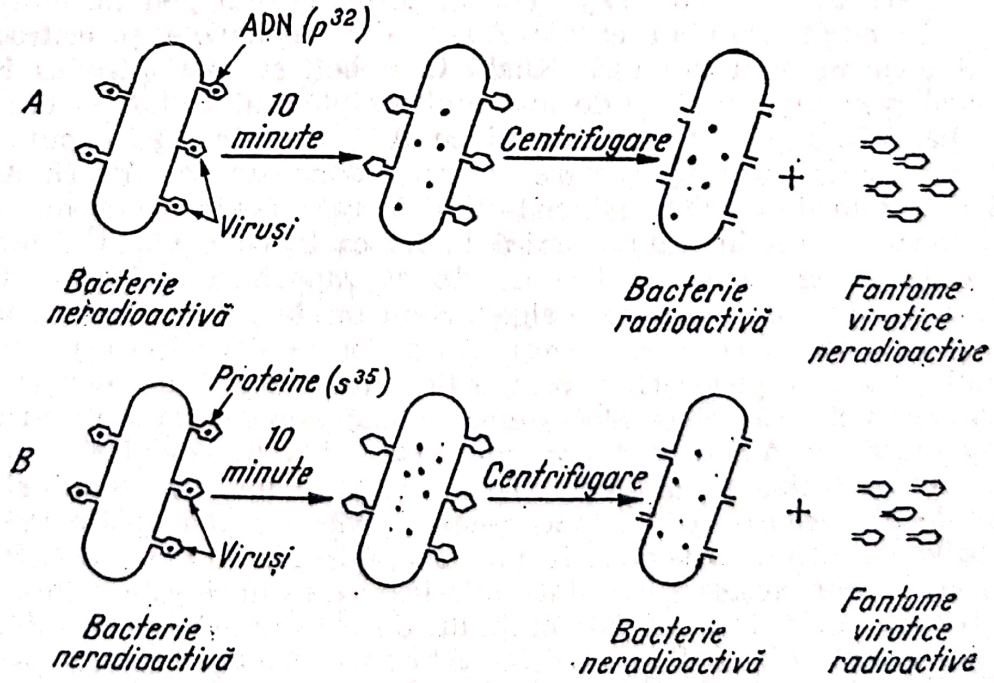



Fig. 156 b. Schema experienței lui A. Hershey și M. Chase.

vat bacterii pe un mediu la care s-a adăugat fosfor radioactiv ($P^{32}$) sub formă de $(P^{32}O_4)^{3-}$. Bacteriofagii obținuți prin infectarea acestor bacterii au devenit la rîndul lor radioactivi, însă numai A D N-ul lor care conține fosfor a fost astfel marcat, în timp ce proteinele au rămas „reci" ele neconținînd fosfor. În mod similar, bacteriofagii au fost marcați cu sulf radioactiv ($S^{35}$) prin inducerea sulfului în mediul de cultură al bacteriilor sub formă de $(S^{35}O_4)^{2-}$. Pe această cale s-au marcat exclusiv proteinele bacteriofagului ce conține sulf și a rămas „rece" A D N-ul.

Mai departe, experiența a decurs astfel : bacteriofagii marcați cu $P^{32}$ au fost utilizați pentru a infecta bacterii neradioactive. După aproximativ 10 minute, timp în care infecția are loc, bacteriile respective au fost introduse într-o centrifugă cu ajutorul căreia „fantomele" bacteriofagilor (adică partea ce rămîne la suprafața bacteriei) sînt deslipite de bacterii și separate. Studiul bacteriilor a arătat că ele au devenit radioactive, în timp ce fantomele bacteriofagilor au rămas reci.

În cazul marcării bacteriofagilor cu $S^{35}$ s-a procedat în același mod, însă studiul materialului obținut după centrifugare a arătat că bacteriile au rămas reci, iar fantomele virotice au devenit radioactive.

Procesul de infectare al bacteriilor de către bacteriofagii radioactivi marcați cu $P^{32}$ și $S^{35}$ a fost urmărit și cu ajutorul microfotografiilor efectuate la microscopul electronic, obținîndu-se rezultate similare. Concluzia acestei experiențe este că procesul de infecție al bacteriei se realizează exclusiv de către A D N-ul bacteriofagului, care este capabil să determine reproducerea virusului respectiv.

În sfîrșit trebuie menționate foarte interesantele studii efectuate de un colectiv de cercetători francezi, format din J. Benoit, P. Leroy, R. și C. Vendrely (1959), privind rolul genetic al A D N la rațe. În acest scop au extras A D N din testiculele și eritrocitele sîngelui unor masculi din rasa Khaki Campbell și l-au introdus intraperitoneal prin injecții timp de mai multe săptămîni la boboci din rasa Pekin. Păsările supuse tratamentului cu A D N străin au început să se modifice, căpătînd unele caractere ale rasei donatoare de A D N. Astfel, ciocul care este de culoare galbenă-oranj la rasa Pekin a devenit negru verzui închis la rațele tratate, adică la fel ca la rasa Khaki Campbell. Penajul la rațele tratate a devenit alb ca zăpada și de aceea ele au primit denumirea de „Blanche-neige". S-au produs, de asemenea, modificări importante în ceea ce privește talia, forma și poziția capului și a corpului, culoarea picioarelor, comportamentul etc. Este interesant de remarcat că noile caractere ale rațelor „Blanche-neige" apărute în urma tratamentului cu A D N sînt ereditare. De pildă în cele trei generații apărute după tratament pînă în 1959, din 2 099 indivizi examinați, un număr de 289 erau de tip „Blanche-neige", 932 indivizi de tip Pekin și 878 indivizi de tip intermediar. În țara noastră, M. Dinu și L. Popa (1964) au obținut aceleași rezultate folosind rase diferite de găini.

Rezultate similare au fost obținute de colectivul de cercetători elvețieni format din J. Stroun, L. Stroun-Guttières, J. Rossi și M. Stroun (1963) la găini albe din rasa Leghorn, la care s-a

transfuzat repetat sînge de la bibilică. S-a constatat că în timp ce în $F_0$ nu au apărut nici un fel de modificări în urma tratamentului, în $F_1$ și în generațiile următoare apar modificări ale penajului, taliei, culorii picioarelor etc. Modificările dobîndite astfel s-au transmis la descendenți în cursul mai multor generații atît pe linie femelă cît și masculă. Se consideră că modificările apărute în urma transfuziilor de sînge s-ar datora tot A D N-ului care se află în eritrocite.

La plante nu s-au efectuat decît puține cercetări privind rolul genetic al A D N. P. R a i c u și M. E l i a s (1962, 1964) au experimentat cu două specii de grîu (*Triticum durum* și *T. aestivum*), extrăgînd A D N din embrionii uneia și introducîndu-l prin vacum-infiltrație în embrionii celeilalte. S-a constatat că A D N străin determină modificări în ritmul de creștere și în talia plantelor, în pigmentația coleoptilelor etc.

## A R N VIRAL, PURTĂTOR AL INFORMAȚIEI GENETICE

După ce s-a pus în evidență faptul că A D N are un rol genetic important, s-a reușit să se arate că la unele organisme foarte simple, de tipul virusurilor, la care nu există A D N, ci numai acid ribonucleic (A R N) și proteine, A R N-ul are un rol similar A D N-ului.

Foarte interesante sînt în această direcție cercetările lui H. F r a e n k e l-C o n r a t și R. W i l l i a m s (1955) în California și A. G i e r e r și G. S c h r a m m (1956) în Germania la virusul mozaicul tutunului (V M T), care după cum se știe conține aproximativ 6% A R N

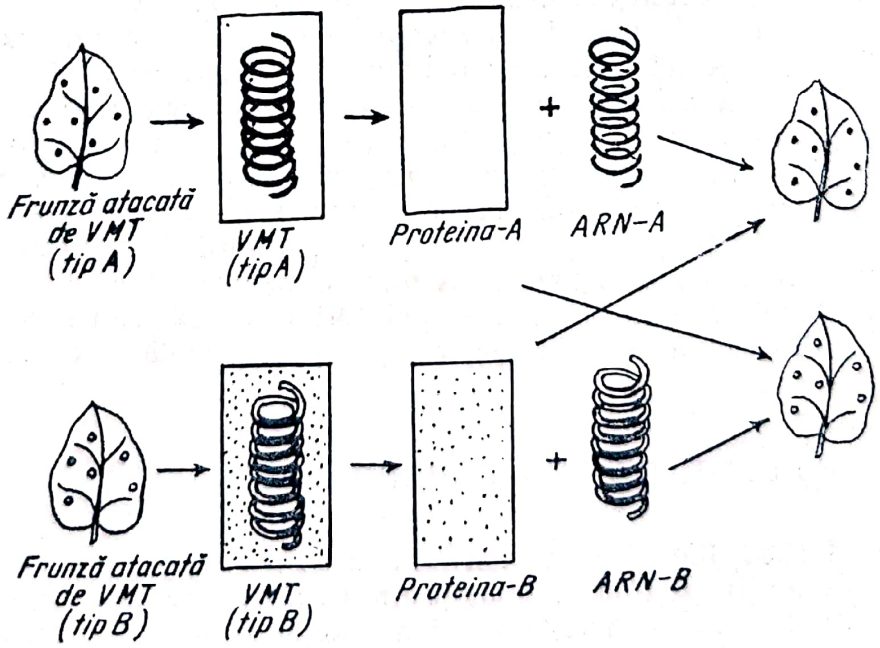



Fig. 157. Resinteza artificială a virusului mozaicului tutunului (V M T).

și 94% proteine. Ei au separat pe cale chimică A R N-ul de proteine și au efectuat infecții artificiale cu ambele componente ale virusului, constatînd că numai A R N-ul are capacitate infecțioasă. După aceea au folosit pentru experimentare două sușe diferite de V M T, care provoacă tipuri diferite de pete pe frunzele de tutun. Aceste două sușe au fost fiecare separate în A R N și proteine, efectuîndu-se apoi unirea A R N-ului de la o sușă cu proteinele de la cealaltă și invers. Cu aceste *virusuri resintetizate artificial* s-au efectuat infecții artificiale ale plantelor de tutun, constatîndu-se în toate cazurile că se obțin pete de tipul sușei de la care provenea A R N-ul.

Experiențe similare au fost efectuate la unele virusuri patogene pentru om și animale, cum sînt, de pildă, virusurile poliomielitei și encefalitei, dovedindu-se capacitatea infecțioasă a A R N-ului extras în stare aproape pură. La noi în țară, un colectiv de la Institutul de Inframicrobiologie condus de R. P o r t o c a l ă a extras încă din 1957 A R N de la virusul gripal, un virus complex structural și chimic, constatînd că A R N-ul prezintă caractere infectante specifice virusului de la care a fost extras.

Toate aceste cercetări dovedesc că la organismele ce nu conțin A D N., acidul ribonucleic este capabil să se înmulțească cantitativ și să determine sinteza proteinelor specifice. Aceasta înseamnă că el poartă informația ereditară necesară pentru reproducerea unor organisme similare.

*

Descoperirea rolului genetic al A D N și A R N a constituit piatra fundamentală a geneticii moleculare. În cele peste două decenii care au trecut de la experiențele clasice ale lui O. T. A v e r y și colaboratorii, cercetările de genetică moleculară au cunoscut un mare avînt și au dus la descoperiri valoroase privind alcătuirea chimică, replicația, sinteza artificială a acizilor nucleici, modul de înregistrare biochimică, păstrare și transmitere a informației ereditare, reglajul genetic, mutațiile eredității la nivel molecular, biosinteza proteinelor etc. Folosirea celor mai moderne metode de cercetare biochimică, biofizică, matematică etc. au dus la adîncirea studiilor mecanismului de transmitere ereditară și au contribuit la dezvoltarea unor cercetări de mare importanță teoretică și practică, cum sînt cele privind originea vieții pe Pămînt, biosinteza artificială a proteinelor, dirijarea artificială a eredității etc.

## NOȚIUNI DE BIOCHIMIA ACIZILOR NUCLEICI

În anul 1869, biochimistul german F r i e d r i c h M i e s c h e r a descoperit în lapții peștelui somon *(Salmo salar)* o substanță pe care a denumit-o *nucleină*. Studiul nucleinei a arătat că ea era formată dintr-o proteină și un acid organic care conținea fosfor. Meritul de a fi identi-

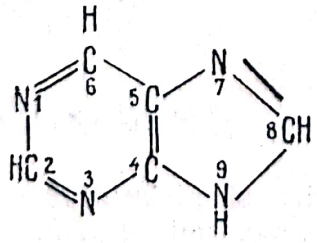
ficat și izolat acest acid organic a revenit histologului Richard Altmann în 1899, care l-a denumit acid nucleic, denumire ce se păstrează și în prezent. Cercetări ulterioare, efectuate în primele decenii ale secolului al XX-lea au arătat că există două tipuri de acizi nucleici, și anume : acizi dezoxiribonucleici prescurtat (A D N), care se găsesc aproape exclusiv în nucleul celulelor vegetale și animale, și acizi ribonucleici prescurtat (A R N), care se găsesc atît în nucleul cît și în citoplasma celulelor. De aceea denumirea de acizi nucleici este eronată din punct de vedere științific, deoarece acești acizi nu se găsesc numai în nucleul celulelor. Din cauză însă că denumirea de acizi nucleici s-a încetățenit în știință, ea poate fi folosită ca atare.

Acizii nucleici au început să fie mai bine cunoscuți după anul 1944, cînd descoperirea cercetătorului american O. T. Avery și a colaboratorilor săi a atras atenția cercetătorilor asupra acizilor nucleici, care au început să fie studiați pe scară largă în numeroase țări.

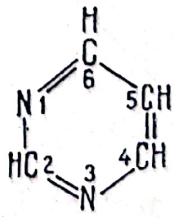
În anul 1953 a avut loc o descoperire de mare importanță în istoria acizilor nucleici, deoarece în acest an J. Watson și F. Crick, studiind cu ajutorul razelor Röentgen structura chimică a acidului dezoxiribonucleic, au reușit să descopere alcătuirea macromoleculei de A D N, fapt care a făcut posibilă dezvoltarea considerabilă a cercetărilor privind acizii nucleici.

Cercetările lor au fost efectuate însă asupra unor acizi nucleici extrași din materia vie, astfel că nu se știa precis dacă structura macromoleculei corespunde cu ceea ce există în materia vie sau este o structură artificială apărută în urma procesului de extracție a acizilor nucleici din materia vie. Cercetările lui M. Wilkins și colaboratorii săi (1953) efectuate asupra unor bacteriofagi și spermatozoizi de la diferite specii, tot cu ajutorul razelor *Röentgen,* au arătat că structura acizilor nucleici este *„in vivo"* aceeași cu cea descoperită de J. Watson și F. Crick. Pentru studiul macromoleculei de A D N, cercetătorii J. Watson, F. Crick și M. Wilkins au fost distinși în anul 1962 cu *premiul Nobel* pentru medicină și fiziologie.

Acizii nucleici sînt substanțe chimice macromoleculare, alcătuite din unități mai simple denumite *nucleotide.* O nucleotidă este alcătuită dintr-o bază azotată, un zahar și un radical fosforic. Bazele azotate din macromolecula acizilor nucleici sînt de două tipuri : *baze purinice și pirimidinice,* ele rezultînd dintr-un nucleu comun denumit purină și respectiv pirimidină.



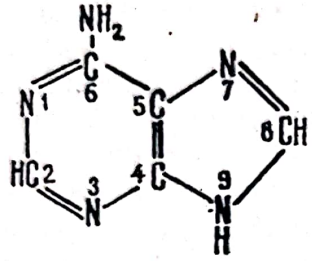

*purină*



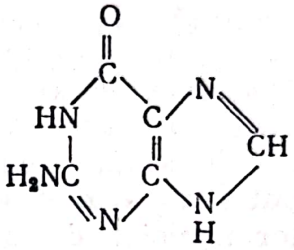

*pirimidină*

*Purina* este o bază azotată alcătuită dintr-un heterobiciclu de 9 atomi, din care 5 de carbon și 4 de azot, în timp ce *pirimidina* are o alcătuire ceva mai simplă, fiind o bază azotată formată dintr-un heterociclu de 6 atomi, din care 4 de carbon și 2 de azot. Prin substituirea atomilor de hidrogen apar o multitudine de baze azotate purinice și pirimidinice care intră în alcătuirea acizilor nucleici din materia vie.

Bazele purinice care intră în alcătuirea acizilor nucleici sînt adenina și guanina :

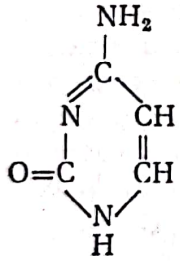


*adenina*
(6-aminopurină)

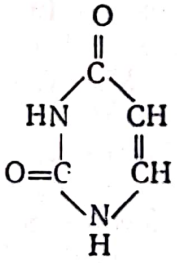


*guanina*
(2-amino-6-oxipurină)

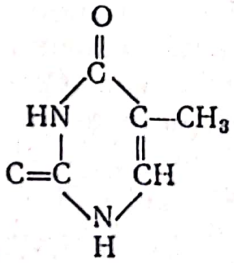
Bazele pirimidinice ce iau parte la alcătuirea acizilor nucleici sînt citozina, timina, uracilul, 5-metilcitozina și 5-hidroximetilcitozina :



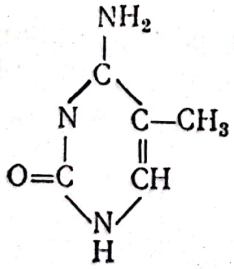
*citozina*
(2-oxi-6-amino-pirimidină)



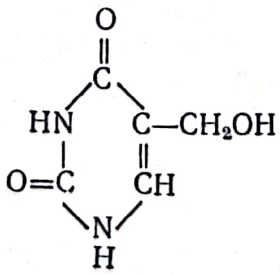
*uracilul*
(2-6-dioxipirimidină)



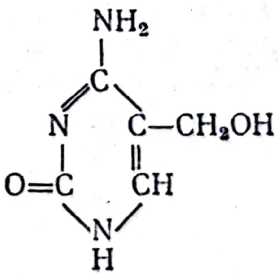
*timina*
(5 - metil-uracil)



5-metilcitozina



5-hidroximetil-uracil



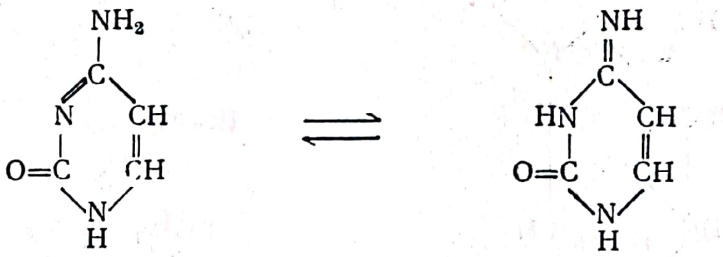
5-hidroximetilcitozina

Menționăm că bazele azotate purinice și pirimidinice se pot afla sub două forme rezultate prin schimbarea poziției unui atom de hidrogen, fenomen ce se cheamă tautomerie. Un prim tip de tautomerizare

este tipul lactam (forma cetonică) — lactim (forma enolică) mai rară, ca, de exemplu, în cazul timinei :

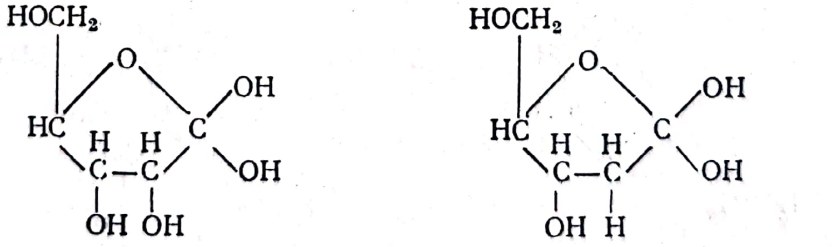
*lactam* (forma cetonică) — *lactim* (forma enolică)

Un al doilea tip de tautomerie este cel în care forma amină este în stare de echilibru cu forma imină (mai rară), ca, de pildă, în cazul citozinei :



*amină* — *imină*

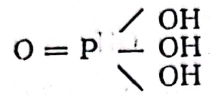
Zaharurile care intră în alcătuirea acizilor nucleici sînt riboza la A R N și dezoxiriboza la A D N. Aceste două zaharuri sînt niște pentoze, avînd deci cîte 5 atomi de carbon.



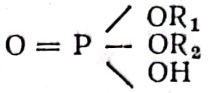
*riboză* (β — D — ribofuranoză) — *dezoxiriboză* (β — D — 2 — dezoxiribofuranoză)

În sfîrșit, radicalul fosforic, sau mai bine ionul fosfat, care intră în alcătuirea acizilor nucleici are 3 hidroxili liberi care pot fi esterificați.

În cazul acizilor are loc esterificarea a doi hidroxili, astfel că ei sînt fosfodiesteri :

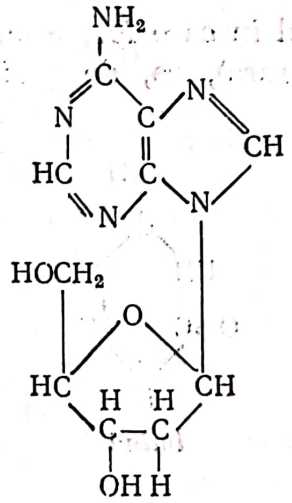


*radical fosforic*

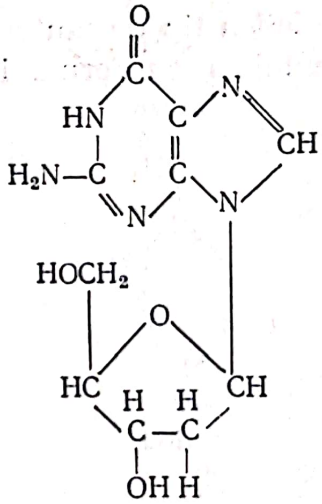


*fosfodiester*

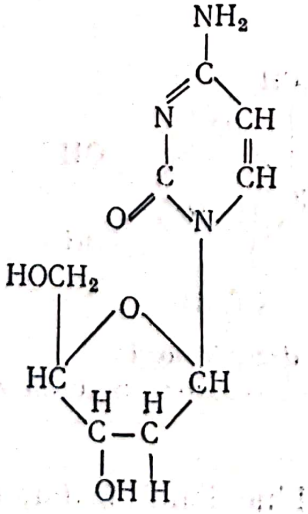
Prin unirea unei baze azotate cu un zahar, riboza sau dezoxiriboza, se obțin așa-numitele *nucleoside*, care pot fi deci β — D — ribofuranoside sau respectiv β — D — dezoxiribofuranoside. Cele mai importante nucleoside care provin din unirea dezoxiribozei cu bazele azotate sînt următoarele :



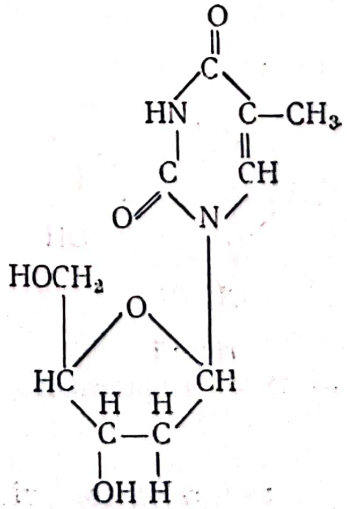
*dezoxiadenosină*



*dezoxiguanosină*

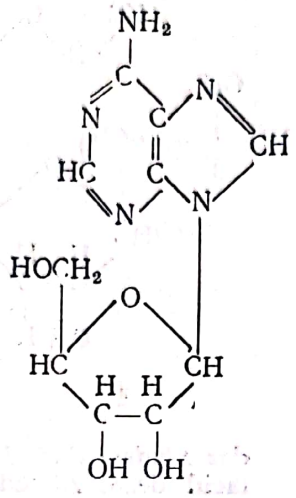


*dezoxicitidină*

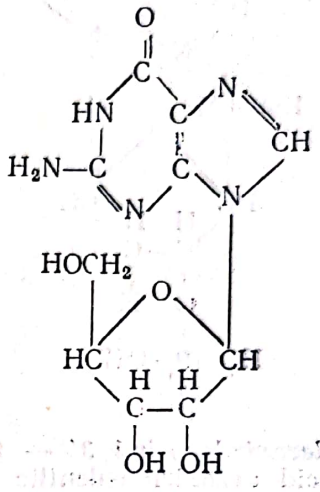


*dezoxitimidină*

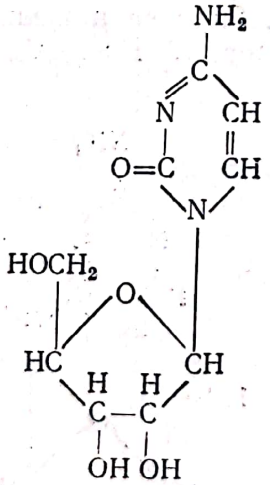
Prin unirea bazelor azotate cu riboza se obțin următoarele nucleoside mai importante :



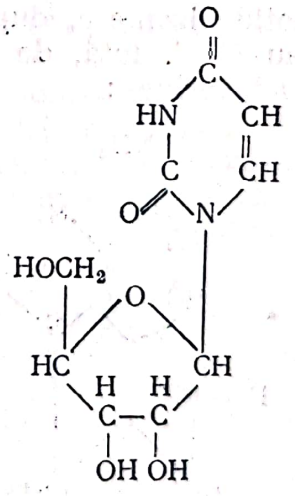
*adenosină*



*guanosină*

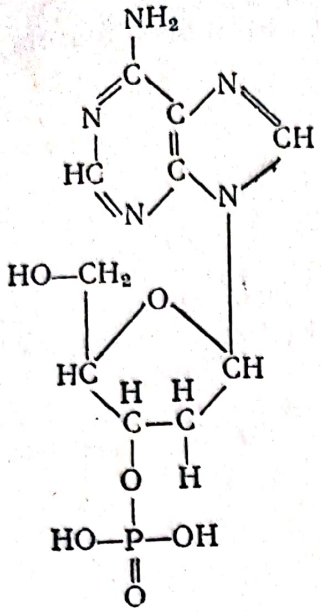


*citidină*

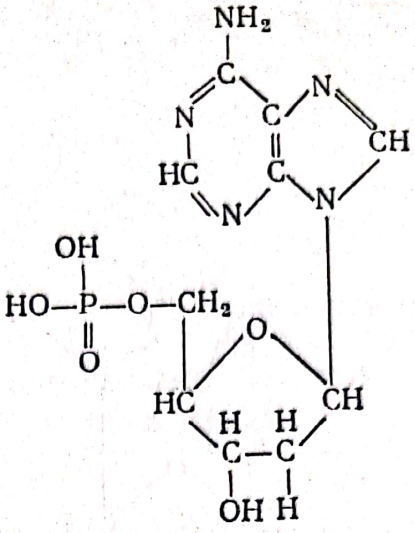


*uridină*

În sfîrșit, prin fosforilarea nucleosidelor se obțin nucleotidele, care sînt unitățile de bază ale acizilor nucleici. De pildă, prin fosforilarea dezoxiadenosinei se obțin două tipuri de nucleotide izomere, după cum radicalul fosforic se atașează de C 3' sau C 5' :



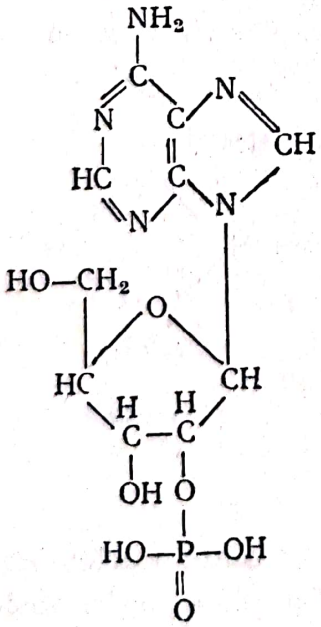
*dezoxiadenosină 3′ — fosfat*
(acid dezoxiriboadenilic — 3′)



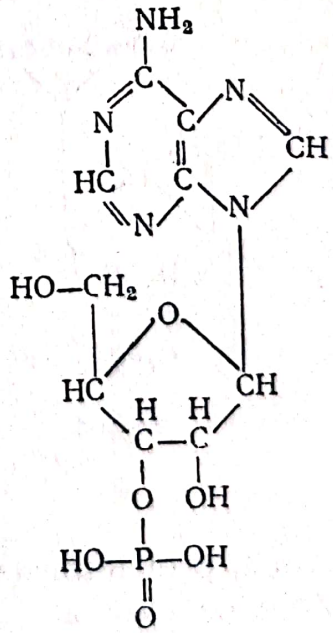
*dezoxiadenosină 5′ — fosfat*
(acid dezoxiriboadenilic — 5′)

Fenomenul prezentat mai sus are un caracter general, deoarece întotdeauna prin fosforilarea nucleosidelor formate pe baza dezoxiribozei se obțin cîte două nucleotide izomere.

Prin fosforilarea nucleosidelor care au la bază riboza se obțin cîte 3 nucleotide izomere, după cum radicalul fosforic se atașează la C 2′, C 3′ sau C 5′. Iată, de pildă, cei trei izomeri ai nucleotidei obținuți pe baza adenosinei :

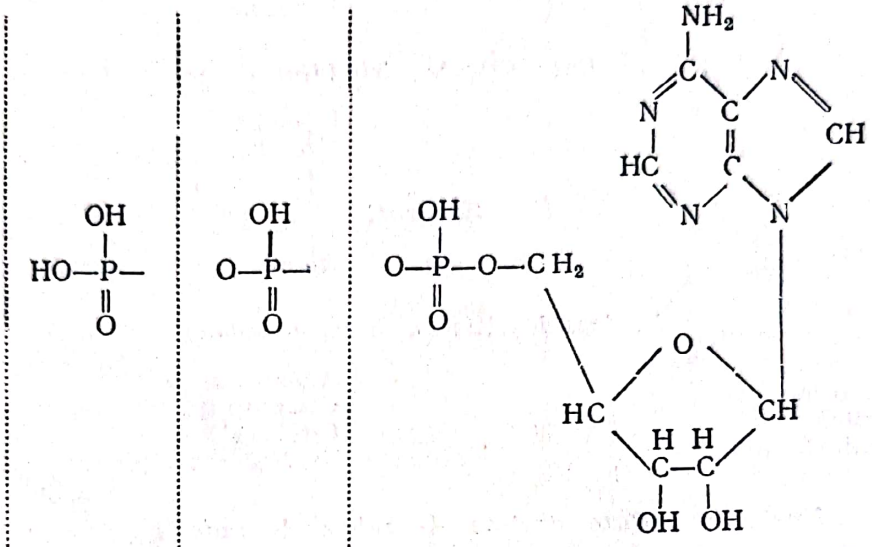


*adenosină 2′ — fosfat*
(acid adenilic — 2′)



*adenosină 3′ — fosfat*
(acid adenilic — 3′)

În ceea ce privește adenosina 5'-fosfat, ea poate să existe sub trei forme, în funcție de numărul de radicali fosforici atașați, și anume: monofosfat (A M P), difosfat (A D P) și trifosfat (A T P). Aceste nucleotide au un rol important în schimbul de energie necesar diferitelor procese vitale.



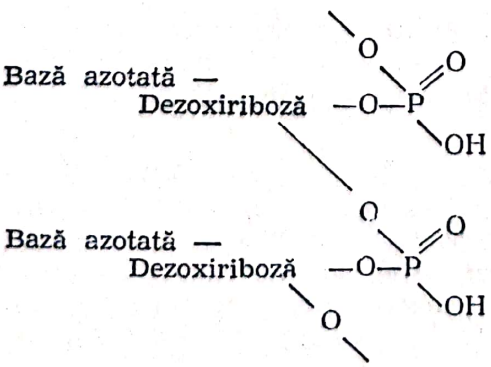
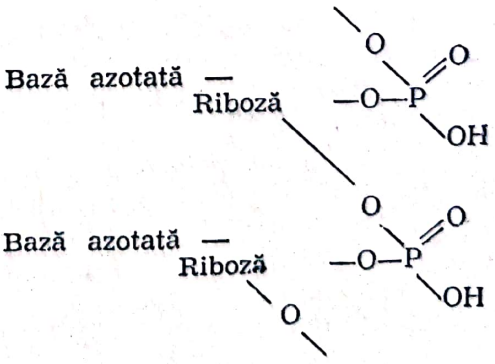
adenosină 5′ — monofosfat (A M P)

adenosină 5′ — difosfat (A D P)

adenosină 5′ trifosfat (A T P).

În mod similar există nucleotide monofosfat, difosfat și trifosfat corespunzătoare celorlalte baze azotate.

Prin înlănțuirea nucleotidelor se obțin oligonucleotide, care au pînă la 10 nucleotide, și polinucleotide sau acizi nucleici, în care intră mai mult de 10 nucleotide. Pe baza celor arătate mai înainte privind alcătuirea chimică a nucleotidelor, se poate prezenta modul de legătură al nucleotidelor și *deosebirea dintre A D N și A R N* (după R. Sager și F. Ryan — 1961).

| *A D N* | *A R N* |
|---|---|
| *Lanțul polinucleotidic* | |
|  |  |

| A D N | A R N |
|---|---|
| *Baze azotate purinice* | |
| Adenină | Adenină |
| Guanină | Guanină |
| *Baze azotate pirimidinice* | |
| Citozină | Citozină |
| Timină | Uracil |
| *Zaharuri* | |
| Dezoxiriboza | Riboza |
| *Nucleoside (baze azotate + zahar)* | |
| Dezoxiadenosină | Adenosină |
| Dezoxiguanosină | Guanosină |
| Dezoxicitidină | Citidină |
| Dezoxitimidină | Uridină |
| *Nucleotide (Baze azotate + zahar + radical fosforic)* | |
| Acid dezoxiriboadenilic | Acid adenilic |
| Acid dezoxiriboguanilic | Acid guanilic |
| Acid dezoxiribocitidilic | Acid citidilic |
| Acid dezoxiribotimidilic | Acid uridilic |

## STRUCTURA CHIMICĂ A MACROMOLECULEI DE A D N

Cercetările lui J. Watson și F. Crick (1953) au arătat că macromolecula de A D N este formată din două lanțuri polinucleotidice paralele, înfășurate elicoidal în jurul unui ax comun și avînd unul o direcție ascendentă, iar celălalt descendentă. Distanța între două nucleotide succesive este de 3,4 Å, iar pasul elicei este de 34 Å, ceea ce corespunde la 10 perechi de nucleotide. Grosimea macromoleculei este de 20—30 Å.

Acidul dezoxiribonucleic din plante, animale, microorganisme, virusuri se prezintă întotdeauna sub forma unei substanțe albe fibroase, care se dizolvă încet în apă distilată și dă naștere unei soluții vîscoase de culoare albă.

În ceea ce privește masa moleculară a A D N s-a constatat că ea este într-o anumită măsură variabilă în funcție de materialul din care a fost izolat și de metoda de extracție. Astfel greutatea moleculară a A D N obținut din timusul de vițel este după diferiți autori cuprinsă între 5 850 000 și 16 500 000, la A D N din eritrocitele sîngelui de găină este de 11 600 000, la A D N din *Escherichia coli* este de 7 000 000 —

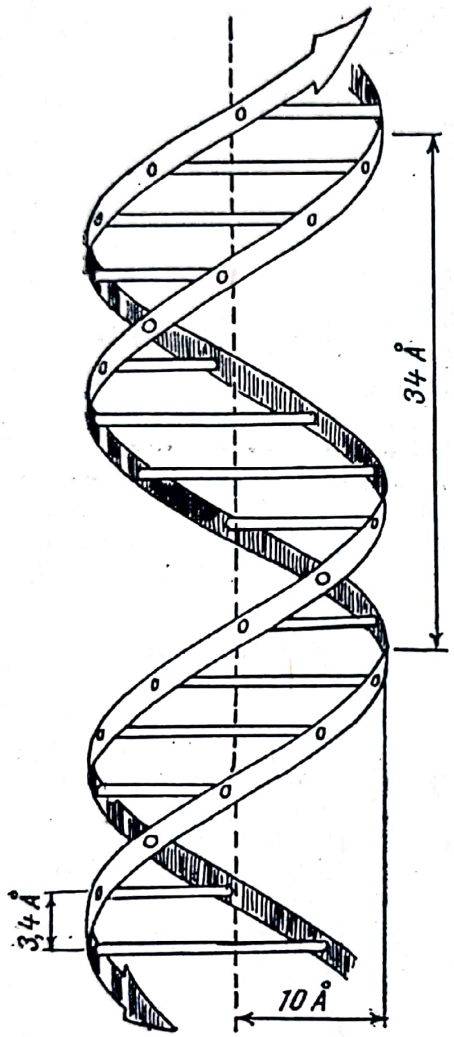



Fig. 158, a. Alcătuirea macromoleculei de A D N.

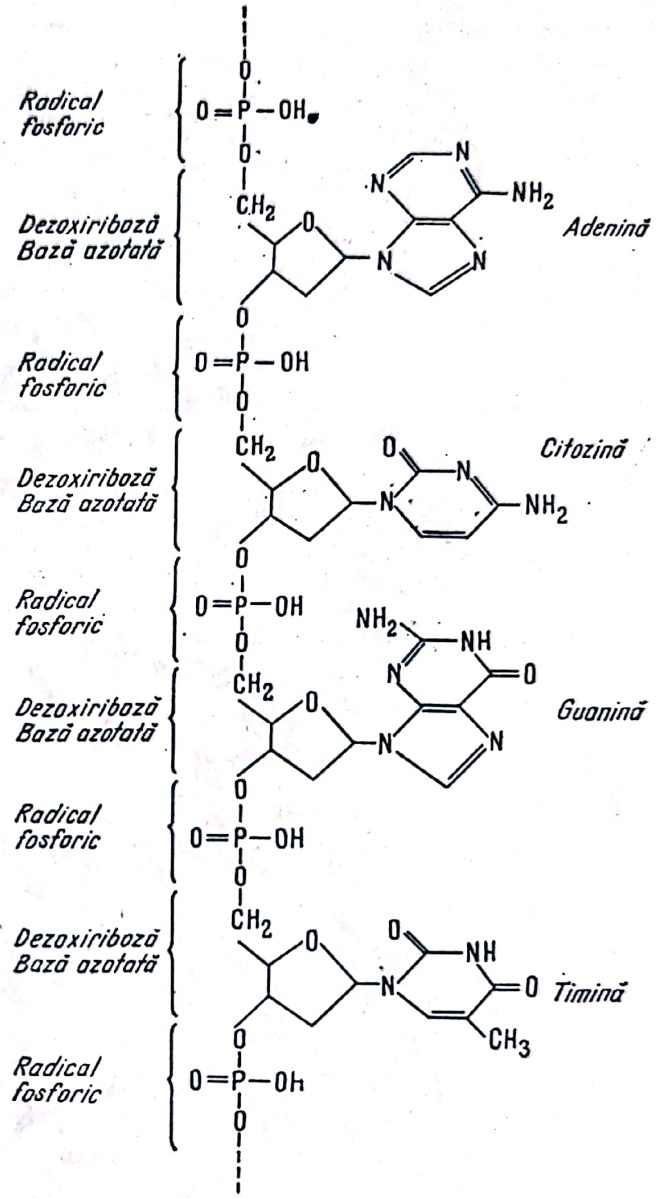



Fig. 158, b. Un lanț polinucleotidic al A D N.

9 000 000 etc. În prezent se consideră că macromolecula de A D N este alcătuită din unități mai mici, având o lungime de 3 000 Å și greutate moleculară de $0,5 \times 10^6$. Prin unirea unei duzini de astfel de unități se obține o macromoleculă cu o stabilitate mai mare. La prepararea A D N în condiții normale se obține o substanță cu greutatea moleculară cuprinsă între 6 și $8 \times 10^6$, iar prin prepararea A D N în condiții speciale prin care se evită precipitarea materialului se obține A D N cu o greutate moleculară cuprinsă între 12 și $16 \times 10^6$.

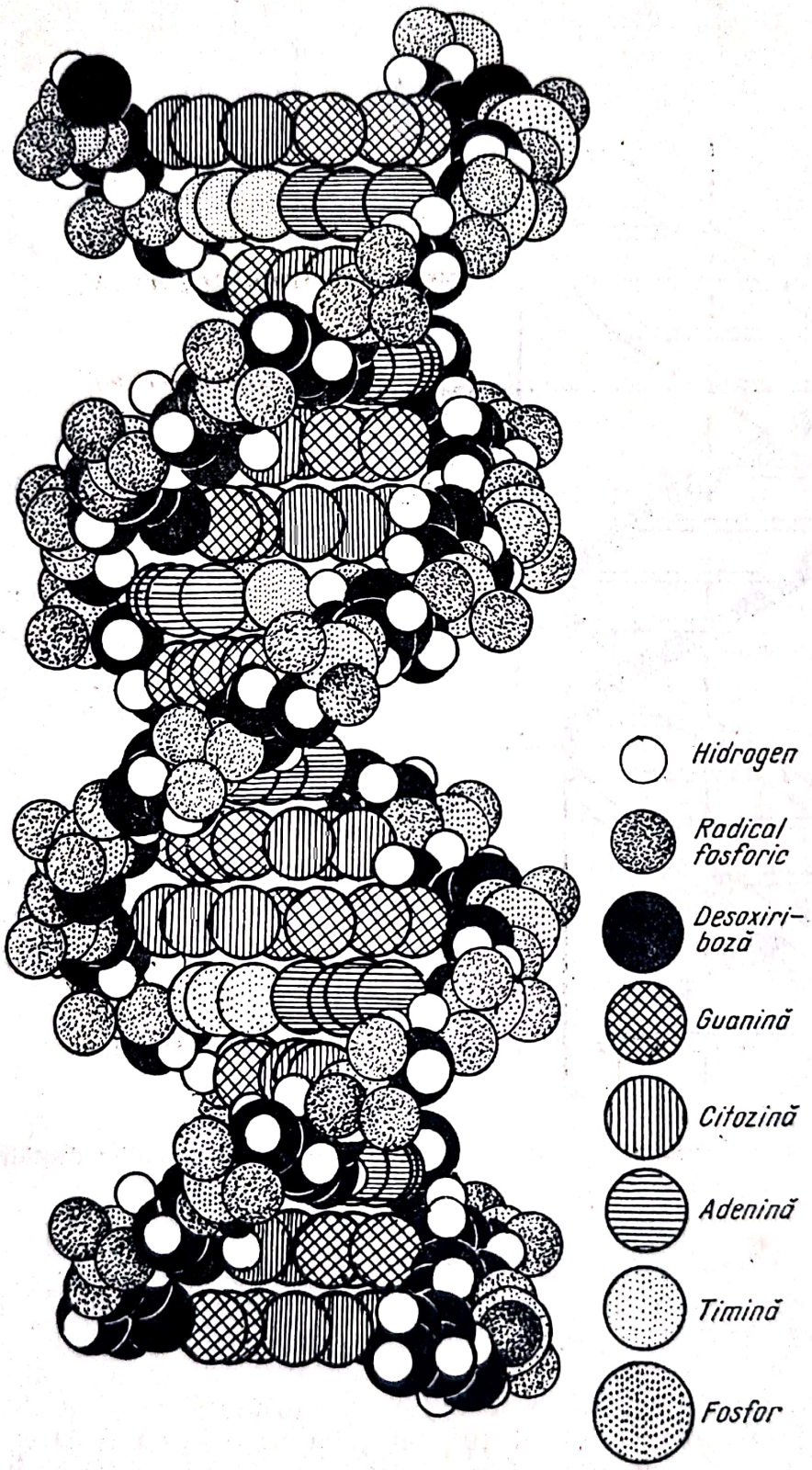



Fig. 159. Macheta macromoleculei de A D N.

Scanned with OKEN Scanner

Spre deosebire de A R N, care este de regulă format dintr-un singur lanț polinucleotidic, A D N este alcătuit din două lanțuri paralele legate între ele întotdeauna printr-o legătură între o bază azotată purinică și una pirimidinică. Ca urmare, în macromolecula de A D N nu există decît următoarele patru tipuri de legături :

adenină — timină
timină — adenină
guanină — citozină
citozină — guanină

Avînd o astfel de structură, cele două lanțuri polinucleotidice ale A D N sînt complementare, deoarece de ordinea în care se succed nucleotidele într-unul depindea ordinea nucleotidelor în celălalt. Bazele purinice și pirimidinice sînt unite între ele prin legături duble sau triple de hidrogen de natură electrostatică, care, fiind în număr suficient de mare de-a lungul macromoleculei, asigură o coeziune suficientă a acesteia.

Studiul A D N provenit de la diferite specii de plante, animale și microorganisme a arătat că el suferă variații mari de la o specie la alta, în ceea ce privește cantitatea diferitelor baze azotate și mai ales raportul între cele două tipuri de legături : citozină și guanină, adenină și timină. Cercetările din laboratoarele lui E. Chargaff (1955) în S.U.A. și ale lui A. N. Belozerski și A. A. Spirin (1957) în U.R.S.S. au reușit să pună în evidență specificitatea A D N provenit de la diferite obiecte vegetale sau animale. Pe această bază s-a ajuns la concluzia că deosebirea esențială între A D N-ul provenit de la diferite specii constă în ordinea de succesiune a legăturilor între bazele azotate purinice și pirimidinice, în timp ce raportul între bazele purinice și pirimidinice se menține aproximativ constant și egal cu 1, după cum se poate observa din tabelul următor.

**CANTITATEA DE BAZE AZOTATE ÎN % LA A D N DE LA DIFERITE BACTERII**
(după *H. Chantrenne*, 1961)

| Speciile | G | A | C | T | Pur./Pir. | $\frac{C+G}{A+T}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Clostridium perfringens | 15,8 | 34,1 | 15,1 | 35,0 | 1,00 | 0,45 |
| Staphylococcus aureus | 17,3 | 32,3 | 17,4 | 33,0 | 0,98 | 0,53 |
| Pasteurella tularensis | 17,6 | 32,4 | 17,1 | 32,9 | 1,00 | 0,53 |
| Proteus vulgaris | 19,8 | 30,1 | 20,7 | 29,4 | 1,00 | 0,68 |
| Escherichia coli | 26,0 | 23,9 | 26,2 | 23,9 | 1,00 | 1,09 |
| Proteus morganii | 26,3 | 23,7 | 26,7 | 23,3 | 1,00 | 1,13 |
| Shigella dysenteriae | 26,7 | 23,5 | 26,7 | 23,1 | 1,01 | 1,15 |
| Salmonella typhosa | 26,7 | 23,5 | 26,4 | 23,4 | 1,01 | 1,14 |
| Salmonella typhimurium | 21,7 | 22,9 | 27,0 | 23,0 | 1,00 | 1,18 |

Scanned with OKEN Scanner

| Speciile | G | A | C | T | Pur./Pir. | $\frac{C+G}{A+T}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ervinia carotovora | 27,1 | 23,3 | 26,9 | 22,7 | 1,02 | 1,17 |
| Corynebacter diphteriae | 27,2 | 22,5 | 27,3 | 23,0 | 0,99 | 1,20 |
| Azotobacter agile | 28,3 | 21,4 | 26,5 | 23,8 | 0,99 | 1,21 |
| Azotobacter vinelandii | 27,4 | 22,1 | 28,9 | 21,7 | 0,98 | 1,28 |
| Azotobacter chroococcum | 28,7 | 20,5 | 28,5 | 22,2 | 0,97 | 1,31 |
| Aerobacter aerogenes | 28,8 | 21,3 | 28,0 | 21,9 | 1,00 | 1,34 |
| Mycobacterium vadosum | 29,2 | 20,7 | 28,5 | 21,6 | 1,00 | 1,37 |
| Brucella abortus | 29,0 | 21,0 | 28,9 | 21,1 | 1,00 | 1,37 |
| Alcaligenes faecalis | 33,9 | 16,5 | 32,8 | 16,8 | 0,98 | 2,00 |
| Pseudomonas aeruginosa | 33,0 | 16,8 | 34,0 | 16,2 | 0,99 | 2,03 |
| Mycobacterium tuberculosis | 34,2 | 16,5 | 33,3 | 16,0 | 1,03 | 2,08 |
| Sarcina lutea | 36,4 | 13,6 | 35,6 | 14,4 | 1,00 | 2,57 |
| Actinomices streptomycini | 36,1 | 13,4 | 37,1 | 13,4 | 0,98 | 2,73 |
| Actinomices flaveolus | 36,3 | 13,8 | 37,2 | 12,7 | 1,04 | 2,77 |
| Actinomices griseus | 35,8 | 13,8 | 37,4 | 13,0 | 0,97 | 2,73 |
| Actinomices viridochromogenes | 36,6 | 13,3 | 37,2 | 12,9 | 0,99 | 2,80 |
| Proactinomyces citreus | 35,3 | 14,2 | 36,7 | 13,8 | 0,98 | 2,57 |
| Micromonospora coerulea | 36,2 | 14 3 | 35,6 | 13,9 | 1,02 | 2,53 |

Rezultatele studiului a 27 specii de microorganisme arată concludent atît deosebirea existentă între cantitatea diferitelor baze azotate și respectiv a raportului citozină + guanină/adenină + timină, care va-

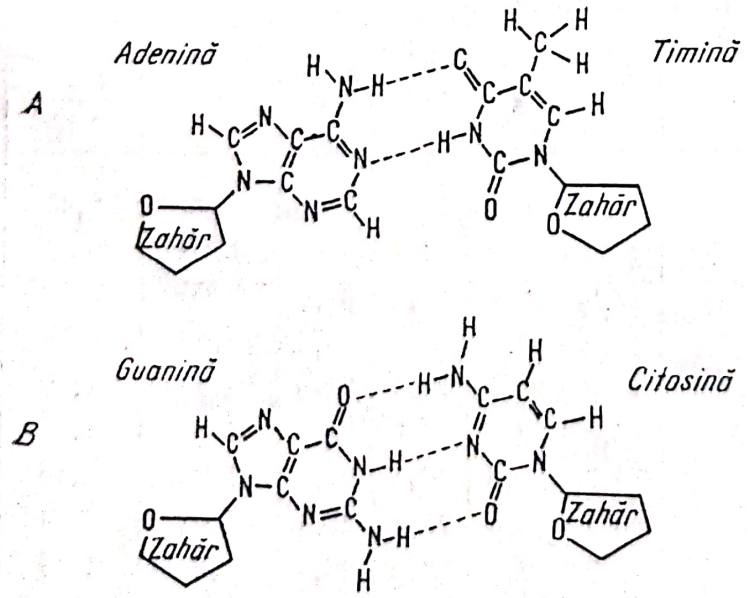



Fig. 160. Legătura dintre bazele purinice și pirimidinice în cadrul macromoleculei de A D N.

riază între 0,45 și 2,80, cît și faptul că raportul baze purinice/baze pirimidinice variază foarte puțin fiind aproximativ egal cu 1.

Faptul că cele patru tipuri de legături între bazele purinice și pirimidinice se pot succeda practic într-o infinitate de moduri în macromoleculele de A D N determină variabilitatea extraordinară a A D N la diferite specii de viețuitoare. Din punct de vedere genetic, această structură a A D N are o mare importanță, deoarece poate explica modul cum este codificată informația ereditară.

În ceea ce privește localizarea A D N în celulă, încă din anul 1924 s-a stabilit de către R. Feulgen că acest acid nucleic se găsește în special în nucleu și respectiv în cromozomi, la celulele aflate în stare de diviziune. Studiul cantitativ al A D N a arătat că se observă o creștere de la organismele mai simple spre cele mai evoluate, fără ca însă corelația să aibă un caracter prea accentuat. După cum se observă din datele tabelului de mai jos, cantitatea de A D N crește de la virusuri, microorganisme spre pești, dar la pești, amfibieni și mamifere variază neregulat.

**CANTITATEA DE ADN LA UN NUCLEU (SAU LA UN VIRUS) LA DIFERITE SPECII IN PG.***
(după *R. Sager* și *F. Ryan*, 1961)

| Speciile | Celule haploide ($n$) sau virusuri | Celule diploide ($2n$) |
|---|---|---|
| Bacteriofagul $T_4$ | $2.10^{-4}$ | — |
| *Escherichia coli* | $1.10^{-2}$ | — |
| *Saccharomices cerevisiae* | $2.4.10^{-2}$ | $4{,}8.10^{-2}$ |
| *Neurospora crassa* | $4.10^{-2}$ | — |
| *Aspergillus nidulans* | $4{,}4.10^{-2}$ | $9{,}0.10^{-2}$ |
| *Drosophila melanogaster* | — | $1{,}7.10^{-1}$ |
| Porumb | — | 7,0 |
| Scrumbie | 0,91 | 1,99 |
| Crap | 1,6 | 3,0—3,3 |
| Păstrăvul curcubeu | 2,45 | 4,9 |
| Broască rîioasă | 3,7 | 7,3 |
| Brotăcel | — | 15,0 |
| Găină | 1,3 | 2,4—2,6 |
| Șoarece | — | 5 |
| Șobolan | — | 6,5—7,6 |
| Taur | 3,3 | 6,4—6,8 |
| Om | 3,3 | 6,0—6,8 |

Cantitatea de baze azotate guanină și citozină (C G) din A D N-ul diferitelor specii variază între 25 și 75%. În general se observă că la organismele mai puțin evoluate variația cantității de C G în A D N este mai mare decît la organismele aflate pe o treaptă superioară de evoluție. Astfel, de pildă, la toate vertebratele studiate pînă în prezent

*) pg = picogram = $10^{-12}$ g.

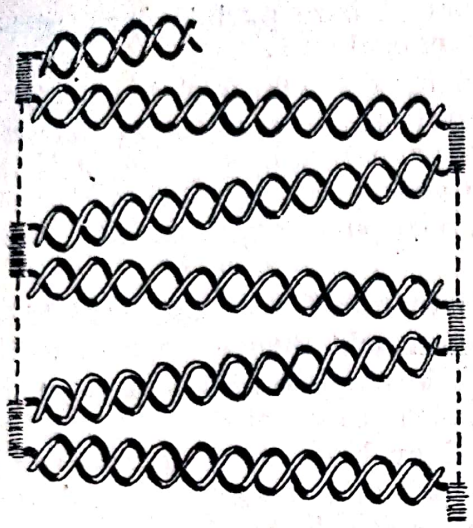


Fig. 161. Schema lui Freese privind dispunerea macromoleculelor de A D N între blocuri de proteine în cromozomi.

cantitatea de C G variază numai între 40—44%.

Din datele tabelului se poate observa, de asemenea, că în celulele diploide (2 *n*) se află o cantitate dublă de A D N față de cele haploide (*n*), ceea ce înseamnă că A D N-ul suferă aceeași variație ca și numărul de cromozomi. În celule, A D N-ul nu se află în general în stare liberă, ci unit cu proteine, complex cunoscut sub denumirea de *nucleoproteine*. La rîndul lor nucleoproteinele sînt de mai multe tipuri, după proteina ce intră în complex. Astfel, în majoritatea celulelor, cu excepția bacteriilor și spermatozoizilor, A D N-ul se găsește unit cu *histone*, complexul fiind denumit generic *nucleohistone*. În spermatozoizi histonele sînt înlocuite cu *protamine*, proteine mai simple, iar complexul se cheamă *nucleoprotamine*. În sfîrșit, recent s-a descoperit că există și un grup de *dezoxiribonucleoproteine* propriu-zise, în care A D N este unit cu alte proteine decît histona și protamina.

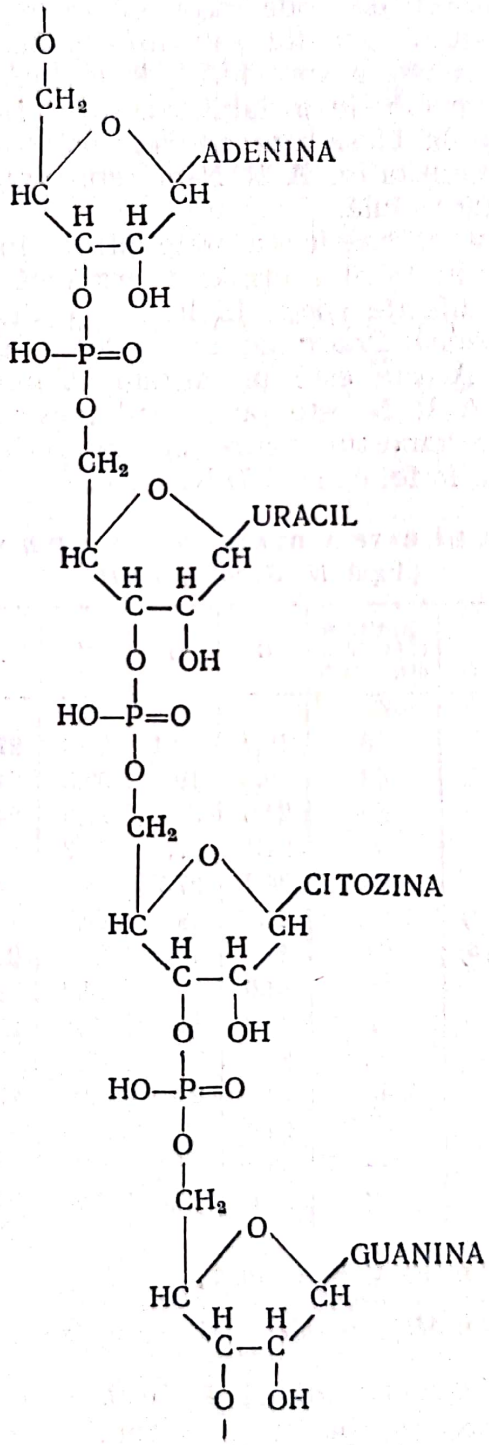
Greutatea moleculară a nucleohistonei extrase din glanda tiroidă de la bou este de $10 \times 10^6$ din care se consideră că fac parte o moleculă de A D N cu greutatea moleculară de $8 \times 10^6$ și mai multe molecule de histone care completează restul. Cantitativ, A D N-ul din cromozomii aflați în glanda tiroidă reprezintă 39%, restul fiind alcătuit din histone și numai 9% din alte proteine.

Pînă în prezent nu este cunoscut modul de dispunere a macromoleculei de A D N în cromozomi. Există însă mai multe ipoteze. După una din aceste ipoteze, în cromozomi se află fibrile de A D N groase de aproximativ 100 Å și care se unesc mai întîi cîte 2, apoi cîte patru etc., astfel că în interfaza premergătoare dedublării cromozomilor numărul fibrilelor ajunge la 32. O altă ipoteză susține că în cromozomi macromolecula de A D N este dispusă liniar, avînd o lungime de cîțiva mm și chiar cm și o grosime de 100 Å. Bineînțeles că în toate cazurile A D N-ul din cromozomi se află în complex cu proteinele, formînd nucleoproteinele.

## STRUCTURA CHIMICĂ A A R N

Acidul ribonucleic are o constituție asemănătoare A D N. Deosebirea esențială dintre cele două tipuri de acizi nucleici constă în aceea că la A R N ca zahar se găsește riboza, iar baza azotată timina de la

A D N este înlocuită cu uracilul. Cercetări mai ample asupra A R N au fost efectuate la virusul mozaicului tutunului (V M T) la care macromolecula este formată din aproximativ 6 400 nucleotide care alcătuiesc un singur lanț polinucleotidic spiralat alcătuit în felul următor :



Cercetările din ultimii ani au dus la identificarea a trei tipuri de A R N, și anume :

*a) Acid ribonucleic mesager sau de informație (A R N-m sau A R N-i).* Acest tip de A R N a fost descoperit de F. Jacob și J. Monod și are o greutate moleculară de aproximativ 500 000. El este sintetizat în nucleu de unde migrează în citoplasmă la ribosomi, fiind purtătorul mesajului genetic sau informației ereditare conținut în A D N pe care-l transferă spre locul de sinteză al proteinelor. Din această cauză el este metabolic instabil, deoarece imediat ce și-a îndeplinit rolul participînd la biosinteza cîtorva molecule de proteină, este hidrolizat și dispare. Cantitativ, A R N-m reprezintă 2—3% din cantitatea totală de A R N din celulă.

Studiul cantitativ al bazelor azotate aflate în macromolecula de A R N -m, prezentat în tabelul următor, arată că citozina + guanina variază procentual la diferite specii în limite relativ mari, însă această variație este foarte asemănătoare cu cea suferită de bazele corespunzătoare din A D N. Acesta este un argument important în sprijinul tezei că acest tip de A R N este purtătorul mesajului genetic. Un alt argument îl constituie raportul dintre bazele purinice și pirimidinice, care este aproximativ 1, la fel ca la A D N.

**CANTITATEA DE BAZE AZOTATE, ÎN % ÎN A R N MESAGER**
(după *N. Sueoka, 1964)*

| Speciile | Cantit. de G+C în % din A D N | C | G | U | A | G+C în % | Pur./Pir. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Bacillus megaterium* | 38 | 19,7 | 23,4 | 29,0 | 27,9 | 43,4 | 10,05 |
| *Proteus vulgaris* | 40 | 19,9 | 19,1 | 32,5 | 28,5 | 39,0 | 0,91 |
| *Escherichia coli* 1) | 50 | 24,0 | 30,2 | 21,3 | 24,5 | 54,2 | 1,21 |
| *Escherichia coli* 2) | 50 | 24,1 | 27,1 | 23,7 | 25,1 | 51,2 | 1,09 |
| *Escherichia coli* 3) | 50 | 24,7 | 27,7 | 23,5 | 24,1 | 52,4 | 1,07 |
| *Pseudomonas aeruginosa* 1) | 64 | 31,0 | 29,0 | 20,5 | 19,5 | 60,0 | 0,94 |
| *Pseudomonas aeruginosa* 3) | 64 | 29,0 | 29,5 | 20,2 | 21,3 | 58,5 | 1,03 |
| Bacteriofagul T 2 | 35 | 18,0 | 18,0 | 32,0 | 32,0 | 36,0 | 1,00 |
| Bacteriofagul T 7 | 47 | 23,7 | 21,8 | 27,8 | 26,7 | 45,5 | 0,94 |
| *Saccharomices cerevisiae* | 36 | 27,1 | 21,2 | 28,7 | 28,6 | 42,9 | 0,99 |
| Viței (timus) | 43 | 19,6 | 23,8 | 29,0 | 27,4 | 43,4 | 1,05 |
| Iepure (timus) | — | 20,4 | 21,3 | 29,6 | 28,7 | 41,7 | 1,00 |
| Porumbel (pancreas) | — | 22,2 | 18,5 | 31,5 | 28,1 | 40,7 | 0,87 |
| Șoarece (ficat) | 42 | 23,6 | 17,8 | 28,4 | 30,2 | 41,4 | 0,92 |

1) după cercetările lui *E. Volkin, 1962;*
2) după cercetările lui *F Gross* și colab., 1961 ;
3) după cercetările lui *M. Hayashi* și *S. Spiegelman,* 1961.

*b) Acid ribonucleic ribosomal (A R N-r).* Acest tip de A R N se găsește localizat în ribosomi, particule citoplasmatice foarte mici care

au dimensiuni de aproximativ 200 mμ. A R N-r reprezintă aproximativ 80% din totalul A R N din celulă, și are o greutate moleculară de 600 000 — 1 200 000. Cercetările cu microscopul electronic, efectuate în ultima vreme, au arătat că la șoareci, de pildă, există de fapt două tipuri de ribosomi : unii mai mari care au diametrul de aproximativ 0,1 μ și alții mai mici. Ulterior cele două tipuri de ribosomi au fost identificate și la alte organisme.

Studiul cantitativ al bazelor azotate ce intră în alcătuirea A R N-r de la diferite specii, prezentat în tabelul următor, arată că bazele azotate citozina și guanina variază în limite relativ restrînse (49,6% — 63,6%) și că această variație nu este corelată cu cea a bazelor respective din A D N. De asemenea, raportul între bazele purinice și pirimidinice este diferit de 1, fapt care indică deosebirea considerabilă a acestui acid nucleic de A D N.

**CANTITATEA DE BAZE AZOTATE, ÎN % LA A R N RIBOSOMAL**
(după N. Sueoka, 1964)

| Speciile | Cantit. de G+C, în % din A D N | Tipul ribosomilor | C | G | U | A | G+C % | Pur./ Pir. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Bacillus cereus* | 35 | — | 21,9 | 31,7 | 21,2 | 25,2 | 53,6 | 1,32 |
| *Diplococcus pneumoniae* | 38 | mari | 19,2 | 31,1 | 24,0 | 25,4 | 50,3 | 1,31 |
| *Diplococcus pneumoniae* | 38 | mici | 18,9 | 30,7 | 24,8 | 25,4 | 49,6 | 1,28 |
| *Bacillus subtilis* | 43 | — | 22,8 | 32,2 | 20,4 | 24,6 | 55,0 | 1,32 |
| *Escherichia coli* | 50 | mari | 20,1 | 32,4 | 22,6 | 24,7 | 52,5 | 1,33 |
| *Escherichia coli* | 50 | mici | 20,7 | 31,7 | 23,2 | 24,2 | 52,4 | 1,25 |
| *Serratia marcescens* | 59 | — | 22,0 | 32,1 | 22,0 | 23,9 | 54,1 | 1,27 |
| *Alkaligenes faecalis* | 67 | — | 22,0 | 31,9 | 21,7 | 24,4 | 53,9 | 1,30 |
| *Sarcina lutea* | 71 | — | 22,6 | 34,2 | 21,7 | 21,5 | 56,8 | 1,26 |
| *Micrococcus lysodeikticus* | 72 | mari | 20,8 | 33,3 | 22,7 | 23,0 | 54,1 | 1,29 |
| *Micrococcus lysodeikticus* | 72 | mici | 22,1 | 31,5 | 24,1 | 22,2 | 53,6 | 1,16 |
| *Pisum sativum* (tulpini) | 40 | — | 22,3 | 31,4 | 22,0 | 24,3 | 53,7 | 1,26 |
| Iepure (reticulocite) | — | — | 28,7 | 34,5 | 18,2 | 18,6 | 63,2 | 1,14 |
| Oaie (reticulocite) | 43 | — | 30,9 | 32,7 | 18,2 | 18,2 | 63,6 | 1,03 |

Ribozomii sînt niște structuri subcelulare, avînd fiecare o greutate moleculară de aproximativ 4 000 000 și fiind constituiți din părți relativ egale de A R N și proteine. La *Escherichia coli* s-a descoperit că într-o singură celulă bacteriană se află circa 15 000 ribozomi, același număr existînd și în reticulocitele sîngelui de la iepurele de casă.

La microscopul electronic ribozomul apare ca o structură în formă de ghindă formată din două părți inegale ce pot fi separate în *subunități ribozomice derivate*, fiecare conținînd o moleculă de A R N caracteristică. Ribozomii se pot unii în agregate mai mari, denumite *poliribozomi* sau *polisomi*, legătura dintre ei fiind asigurată cu ajutorul

A R N-mesager. În sfîrşit, în celule mai există două tipuri de *subunităţi ribozomice iniţiale*, din care iau naştere o anumită categorie de *monozomi sau ribozomi*. Unii consideră că subunităţile ribozomice derivate ar fi identice cu cele iniţiale, deşi nu există date experimentale în acest sens.

Studiile efectuate de J. O. Bishop (1966) cu ajutorul reticulocitelor iepurelui de casă, celule care sintetizează numai hemoglobină care are structură binecunoscută, au demonstrat că subunităţile ribozomice iniţiale au rol important în sinteza proteică. Astfel, utilizîndu-se un sistem acelular în care existau ribozomi şi subunităţi ribozomice iniţiale din reticulocite, s-a constatat că numărul de molecule de proteine hemoglobinice sintetizate este proporţional cu numărul de subunităţi ribozomice iniţiale şi nu cu cel al ribozomilor.

În mod similar, folosindu-se un A R N mesager artificial de tip poli-U, s-a constatat într-un sistem acelular că subunităţile ribozomice iniţiale sînt de 3—4 ori mai active ca ribozomii în sinteza polifenilalaninei. Dacă cele două tipuri de subunităţi ribozomice iniţiale sînt separate, ele devin inactive în sinteza proteică. Un studiu similar s-a efectuat prin marcarea radioactivă a unuia din cei doi A R N care intră în alcătuirea subunităţilor ribozomice iniţiale.

c) *Acid ribonucleic de transfer (A R N-t) sau A R N solubil (A R N-s).* A R N-t este format numai din 80—100 nucleotide şi are o greutate moleculară de 25 000—30 000. Acest tip de acid ribonucleic are un rol important în procesul de biosinteză a proteinelor, deoarece se combină cu aminoacizii şi îi transferă spre locul de sinteză proteică, adică mai ales spre ribozomi. Pentru fiecare din cei 20 de aminoacizi mai importanţi există unul sau mai mulţi A R N-t cu care ei reacţionează. În total există 64 de A R N-t.

| Speciile | Cant. de G+C, în % din *ADN* | *C* | *G* | *U* | *A* | Pseudouracil | *G+C* % | Pur./ Pir. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Bacillus cereus* | 35 | 28,0 | 31,1 | 18,8 | 20,5 | 1,6 | 59,1 | 1,06 |
| *Diplococcus pneumoniae* | 38 | 22,9 | 29,7 | 25,0 | 22,2 | — | 52,6 | 1,08 |
| *Bacillus subtilis* | 43 | 26,9 | 30,8 | 19,7 | 21,9 | 0,7 | 57,7 | 1,12 |
| *Escherichia coli* 1) | 50 | 28,6 | 31,0 | 18,8 | 20,4 | 1,2 | 59,6 | 1,06 |
| *Escherichia coli* 2) | 50 | 24,7 | 32,0 | 22,5 | 20,5 | — | 56,7 | 1,11 |
| *Serratia marcescens* | 59 | 22,2 | 32,4 | 22,8 | 20,9 | 1,7 | 54,6 | 1,14 |
| *Alkaligenes faecalis* | 67 | 27,6 | 34,1 | 17,8 | 19,3 | 1,3 | 61,7 | 1,14 |
| *Sarcina lutea* | 71 | 27,3 | 34,6 | 17,8 | 19,3 | 1,0 | 61,9 | 1,17 |
| *Micrococcus lysodeikticus* | 72 | 25,1 | 31,7 | 23,4 | 19,6 | — | 56,8 | 1,06 |
| *Saccharomices cerevisiae* | 36 | 28,4 | 29,2 | 20,0 | 18,5 | 3,9 | 57,6 | 0,91 |

1) după cercetările lui K. Miura, 1962.
2) după cercetările lui C .R. Woese, 1961.

Rezultatele studiului cantitativ al bazelor azotate din A R N-t, prezentate în tabelul anterior, arată că bazele citozină + guanină reprezintă la diferite microorganisme 52,6—61,9% din cantitatea totală de baze și că raportul între bazele purinice și pirimidinice este apropiat de 1, la fel ca la A D N. Spre deosebire însă de A R N-m la care procentul de guanină și citozină este aproximativ egal cu cel din A D N, la A R N-t el este diferit de A D N. A R N-t are specificitate în sensul că un anumit tip nu poate fi sintetizat decît de o anumită specie, însă o dată sintetizat el poate servi la transferul unui aminoacid spre locul de sinteză al proteinei la orice specie, adică este universal. De pildă, A R N-t sintetizat de *E.coli* poate servi la transferul aminoacizilor pentru sinteza hemoglobinei de iepure, în cazul cînd se folosește un A R N-m de la iepure.

## SINTEZA A D N IN VIVO ȘI IN VITRO

O problemă de mare importanță nu numai genetică, ci și general biologică, este problema transmiterii informației ereditare de la celulele-mamă la celulele-fiice în cursul procesului de diviziune celulară. După cum se știe, diviziunea celulară este de două feluri, și anume : *mitoza* prin care dintr-o celulă somatică, cu un anumit număr de cromozomi (2 *n*), se formează două celule-fiice care au fiecare același număr de cromozomi (2 *n*) ; meioza sau diviziunea de reducere cromozomală prin care se pornește de la celule somatice sau diploide (2 *n*) și prin diviziuni repetate se ajunge la celule sexuale haploide (*n*), care au jumătate din numărul de cromozomi ai celulelor de la care s-a pornit. În felul acesta, prin două diviziuni celulare succesive se ajunge de la o celulă cu 2 *n* cromozomi la patru celule cu *n* cromozomi. Prin unirea a două celule sexuale diferite (♀ și ♂) se formează în procesul fecundării o celulă -ou sau zigot care are 2 *n* cromozomi.

După cum s-a arătat, în celulele somatice se află o cantitate dublă de A D N comparativ cu cele sexuale. Din studiul evoluției cantității de A D N în cursul procesului de diviziune celulară mitotică a reieșit că spre sfîrșitul interfazei are loc un proces rapid de sinteză a A D N în celulă, astfel că în profază și metafază celula conține o cantitate dublă de A D N. Imediat după metafază, cînd cromozomii se separă și încep să migreze spre cei doi poli ai celulei, în anafază și telofază, cantitatea de A D N se reduce la nivelul normal în celulele nou formate. S-a constatat, de asemenea, că sinteza A D N și clivajul cromozomilor în două cromatide au loc concomitent, adică la sfîrșitul interfazei.

Cercetările lui K. G. L a r k (1963) au arătat că după metafază (M) urmează o perioadă în care cantitatea de A D N din celulă rămîne relativ constantă ($G_1$). După aceea intervine o perioadă de biosinteză intensă (S) care duce la dublarea cantității de A D N din celulă, pentru ca în sfîrșit în perioada premergătoare metafazei ($G_2$) cantitatea de A D N să rămînă, de asemenea, constantă.



Scanned with OKEN Scanner

După cercetările lui C. P. Stanners și J. E. Till (1960), efectuate cu ajutorul timidinei marcate cu tritiu ($H^3$) la țesut de șoarece, faza de biosinteză a A D N (S) durează 6—7 ore, faza premergătoare metafazei ($G_2$) durează 3—4 ore, metafaza (M) durează aproximativ 20 minute, iar faza de după diviziunea celulară ($G_1$) ține 9—11 ore. Bineînțeles că durata diferitelor faze ale ciclului celular și cantitatea de A D N din celule în cursul acestui ciclu suferă variații considerabile în funcție de specie, țesut, tip de celulă și condiții de mediu.

Referitor la locul de biosinteză a A D N, toate cercetările efectuate pînă în prezent arată cromozomii drept unicul loc în care se desfășoară acest proces. Acest fapt a fost demonstrat mai ales pe baza experiențelor efectuate prin metoda autoradiografiei, în care s-a folosit timidină marcată cu tritiu ($H^3$) care emite slabe radiații beta (β) ce pot fi relativ ușor localizate.

J. H. Taylor și Mc. Master (1954) au cercetat modificările cantitative ale A D N în celulele unei liliacee *(Lilium longiflorum)*, atît în cursul mitozei cît și al meiozei, folosind metoda marcării A D N cu un izotop radioactiv al fosforului, și anume cu $P^{32}$ inclus sub formă de $K_2H\ P^{32}O_4$ în anterele florilor respective. Prin metoda autoradiografiei s-a determinat apoi momentul cînd cromozomii au devenit radioactivi și deci capabili să impresioneze placa fotografică, moment în care se realiza sinteza A D N folosind fosfor radioactiv. După aceea cu ajutorul unui citofotometru s-a măsurat cantitatea relativă de A D N la o celulă, după ce materialul a fost în prealabil fixat și colorat prin metoda Feulgen. Cercetările lor au arătat în primul rînd că fosforul nu este inclus în A D N-ul anterelor decît în anumite perioade, și anume atunci cînd are loc dedublarea cromozomilor, după cum se vede din desenul alăturat (momentele de sinteză a A D N sînt marcate cu pătrate negre). Din graficul ce prezintă variația cantității de A D N în celule reiese că pornind de la un anumit nivel normal pentru celulele diploide (I), în profaza meiozei (II) cantitatea este dublată, pentru ca în cursul celor două diviziuni celulare din cursul meiozei (III) cantitatea de A D N să se reducă mai întîi la nivelul normal diploid și apoi din nou la jumă-

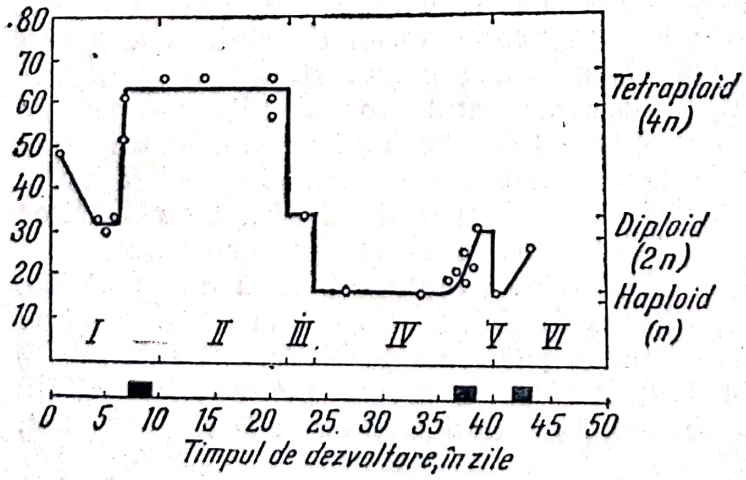



Fig. 162. Variația cantitativă a A D N în cursul mitozei și meiozei la *Lilium longiflorum*.

tate la nivel haploid. În cursul procesului de formare a microsporilor (IV), cantitatea de A D N se menține un timp constantă, reprezentînd 50% din cantitatea celulelor diploide, apoi la sfîrșitul interfazei se dublează, pentru ca în cursul mitozei (V) să se reducă din nou la jumătate. În procesul de formare al grăunciorilor de polen (VI) are loc din nou un proces de biosinteză a A D N. Celulele sexuale haploide (*n*) au numai jumătate din cantitatea de A D N a celulelor diploide (2 *n*). S-a pus astfel în evidență prin metode moderne foarte precise că variația cantității de A D N este similară cu cea a numărului de cromozomi din celule.

O altă problemă deosebit de importantă este cea a modului cum se realizează sinteza A D N din celule pentru a asigura transmiterea informației ereditare la celulele-fiice. Aceasta înseamnă că există un mecanism care asigură cu o înaltă precizie sinteza noilor macromolecule de A D N, relativ identice cu macromoleculele vechi. În ce constă acest mecanism ?

Pentru a explica modul cum se realizează sinteza A D N, s-au elaborat mai multe ipoteze.

Prima dintre ipoteze consideră că sinteza A D N se realizează după *tipul conservator*. Conform acestei ipoteze, noua macromoleculă de A D N este sintetizată *de novo*, ca matriță servind vechea macromoleculă. Ca urmare, alături de vechea macromoleculă apare una nouă, identică cu ea, însă nou sintetizată.

A doua dintre ipoteze consideră că sinteza A D N are loc după *tipul semiconservator*. Această ipoteză pornește de la premisa că în macromolecula de A D N are loc la un moment dat ruperea legăturilor dintre cele două lanțuri polinucleotidice, care devin astfel independente și servesc fiecare ca matriță pentru formarea unui lanț polinucleotidic complementar. Ca urmare, dintr-o macromoleculă veche de A D N se formează două macromolecule, dar care sînt noi numai pe jumătate. Fiecare macromoleculă nouă de A D N apare deci ca fiind formată dintr-un lanț polinucleotidic vechi și unul nou sintetizat.

În sfîrșit, cea de-a treia ipoteză consideră că sinteza A D N se realizează prin *dispersie*. Aceasta înseamnă că la un moment dat vechea macromoleculă de A D N se „desface" în părțile componente și împreună

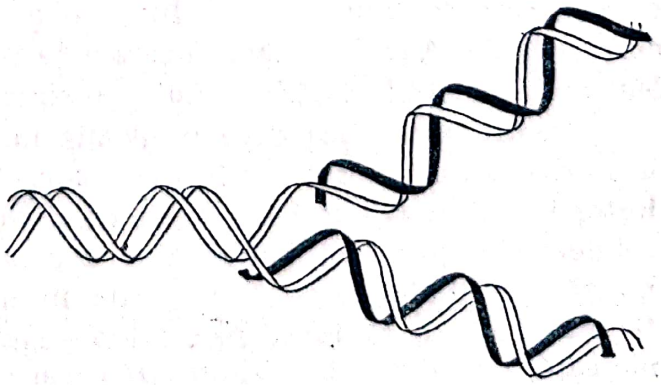


Fig. 163. Tipul semiconservator de replicare al macromoleculei de A D N.

cu materia primă aflată în mediul celular servește pentru sinteza a două noi macromolecule de A D N care conțin deci atît nucleotide „vechi" cît și nucleotide nou sintetizate.

Cercetări vaste efectuate în diferite laboratoare au arătat că toate cele trei ipoteze sînt valabile în anumite cazuri. Astfel, procesul de formare al A R N-m la care A D N-ul servește drept matriță se realizează după tipul conservator, deoarece după sinteza A R N-m, matrița A D N rămîne nemodificată. Sinteza A D N se realizează în general după tipul semiconservator, însă în cazul bacteriofagilor de tip T procesul este însoțit de fragmentarea macromoleculei de A D N și apoi unirea fragmentelor în cadrul lanțului polinucleotidic, asemănător cu tipul de sinteză prin dispersie.

*Ținînd seama că reproducerea A D N se realizează de fapt după tipul semiconservator și că în urma acestui proces apar două macromolecule identice cu macromolecula inițială, precum și datorită faptului că pe această cale se transmite cu o înaltă fidelitate informația ereditară la descendenți, fenomenul de sinteză a macromoleculei de A D N a primit denumirea de replicație.* Pe baza schemei lui J. W a t s o n și F. C r i c k, replicația macromoleculei de A D N după tipul semiconservator se realizează astfel: la un moment dat, la extremitatea sau într-un punct oarecare al macromoleculei are loc o rupere a legăturilor de hidrogen între cele două lanțuri polinucleotidice, după care ruperea se continuă de-a lungul macromoleculei asemănător cu desfacerea unui fermoar. În același timp are loc o derulare a lanțurilor polinucleotidice și ca urmare fiecare nucleotidă se rotește într-un plan spre exterior în jurul radicalilor fosforici. În sucul celular care constituie mediul ambiant pentru A D N se află nucleotide diferite care au fost sintetizate în celulă și care conțin cele patru baze : adenină, guanină, citozină și timină. Ținînd seama de corespondența care trebuie să existe între bazele purinice și pirimidinice, o nucleotidă care conține adenină se va lega cu o nucleotidă care conține timină, iar una care conține guanină se va lega cu una care conține citozină. În felul acesta are loc dedublarea macromoleculei de A D N fiecare macromoleculă-fiică fiind formată dintr-un lanț polinucleotidic vechi și unul nou sintetizat.

Pentru a verifica dacă replicația macromoleculei de A D N are loc într-adevăr după tipul semiconservator, J. H. T a y l o r (1957) a folosit izotopii radioactivi. S-a constatat că dacă în timpul sintezei A D N-ului celulele sînt puse într-un mediu ce conține timidină, nucleotida corespunzătoare timinei este încorporată în molecula de A D N, fără a mai fi nevoie ca ea să fie sintetizată de către organism. Timidina poate fi marcată cu ajutorul tritiului ($H^3$), care prin dezintegrare dă heliu și

Scanned with OKEN Scanner

emite particule β de slabă energie, care pot impresiona placa fotografică. Prin analiza autoradiofotografiilor este astfel posibilă determinarea repartiției elementelor radioactive în cromozomi.

J. H .Taylor a folosit pentru acest studiu rădăcinile în creștere ale unei liliacee *(Bellevalia romana)* care are un număr redus de cromozomi ($2n = 8$), dar care sînt mari și de talie diferită, astfel că pot fi ușor identificați. Rădăcinile au fost puse într-o soluție nutritivă, la care s-a adăugat timidină marcată cu $H^3$, pentru aproximativ 8 ore. După aceea, rădăcinile au fost scoase și puse într-o soluție nutritivă fără timidină marcată, adică într-un „mediu rece". Pentru a determina cîte diviziuni celulare au avut loc după scoaterea rădăcinilor din mediul cu timidină marcată, în „mediul rece" s-a adăugat colchicină, care după cum se știe nu împiedică diviziunea cromozomilor, ci numai formarea fusului nuclear. Ca urmare, cromozomii nu migrează spre cei doi poli ai celulei, astfel că noua celulă va îngloba patru *n* cromozomi, adică 16 cromozomi în cazul plantei *Bellevalia romana*. În felul acesta, numărul de cromozomi observați în metafază dă indicații dacă a avut loc o diviziune celulară (8 cromozomi), două diviziuni celulare (16 cromozomi) etc. În aceeași celulă se găsesc astfel reuniți cromozomii care derivă prin clivajul aceluiași cromozom, dar care s-au format în mediu radioactiv și în „mediu rece". După cîteva ore s-a început efectuarea de preparate microscopice care erau acoperite cu plăci fotografice.

Cercetările lui J. H. Taylor au arătat că în prima metafază, care urmează după punerea rădăcinilor în mediu rece, ambii cromozomi ai unei perechi sînt radioactivi în mod egal. În metafaza celei de-a doua diviziuni a celulei se constată însă că fiecare cromozom conține o cromatidă radioactivă și alta rece. Din această experiență se poate trage concluzia că replicația A D N-ului se face după tipul semiconservator, fiecare macromoleculă nouă fiind formată dintr-un lanț polinucleotidic vechi și unul nou sintetizat. Rezultatele obținute la *Bellevalia* au fost

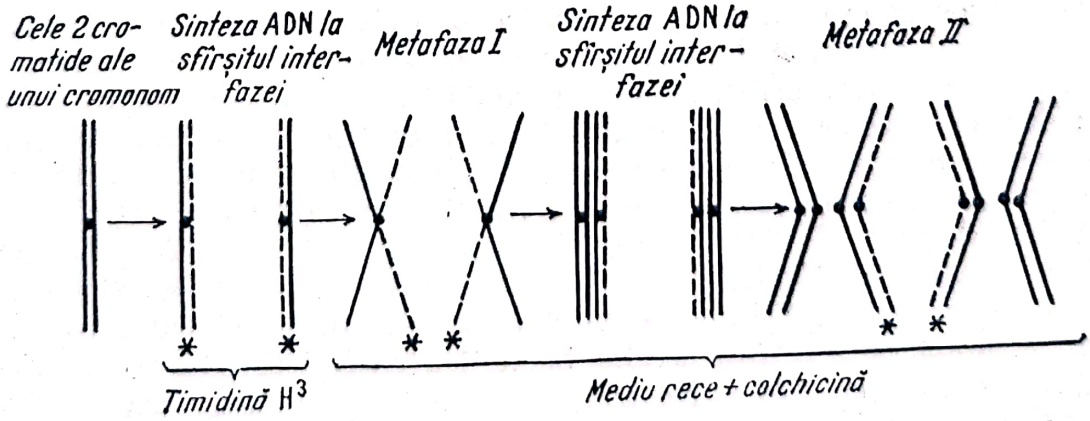



Fig. 164. Dedublarea cromozomilor în mediu cu timidină marcată și în „mediu rece" în experiența lui J. H. Taylor.

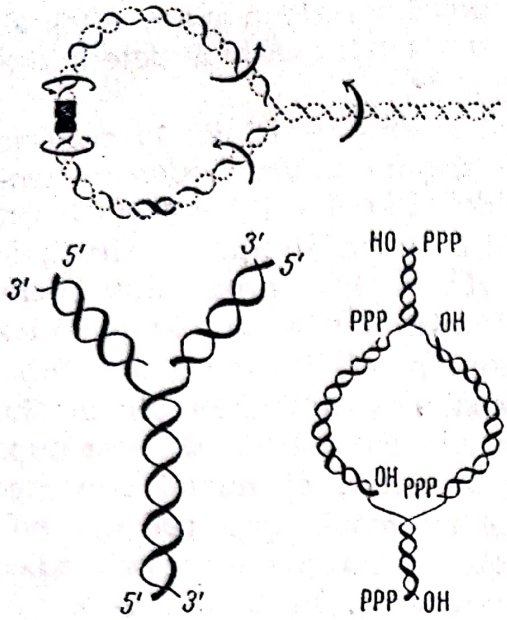



Fig. 165. Ipotezele lui Cairns (sus) și a lui Bollum (jos) privind mecanismul replicației A D N.

apoi verificate de către J. H. Taylor și alți cercetători la diferite specii de plante (*Vicia faba, Allium cepa, Crepis etc.*), dovedindu-se a fi exacte.

Studiul replicației A D N s-a efectuat însă nu numai la nivelul cromozomilor, ci și la nivel molecular. În acest scop *M. Meselson* și *F. W. Stahl* (1958) au pus la punct o tehnică de marcare a A D N cu un izotop stabil al azotului, și anume cu $N^{15}$, care se poate separa relativ ușor de azotul obișnuit ($N^{14}$) prin centrifugare. Cei doi cercetători au cultivat bacteria *Escherichia coli* pe un mediu conținînd în loc de $N^{14}$, un izotop stabil al său $N^{15}$ adăugat sub formă de clorură de amoniu. După ce au fost lăsate cîtva timp pe acest mediu pentru a se divide, bacteriile au fost trecute pe un mediu normal unde au fost lăsate, de asemenea, pentru a se înmulți. După numărul de bacterii se poate relativ ușor determina dacă a avut loc o diviziune sau două diviziuni. După aceea, bacteriile au fost lizate și centrifugate într-un gradient de densitate, procedeu prin care este posibilă separarea nucleilor care conțin $N^{14}$ și a celor care conțin $N^{15}$ între care există diferențe foarte ușoare de greutate. Pentru determinarea repartiției A D N-ului în gradientul de densitate s-a măsurat absorbția în radiații ultraviolete cu lungime de undă de 2 600 Å , specifică pentru A D N, a diferitelor porțiuni de gradient. Centrifugarea lizatelor provenite de la bacteriile cultivate pe mediul cu $N^{15}$ și care au efectuat o singură diviziune în mediul normal arată că A D N-ul acestor bacterii avea o densitate intermediară între A D N-ul cu $N^{15}$ și cel cu $N^{14}$. Dacă însă se făcea centrifugarea după ce s-au efectuat doi diviziuni în mediul normal, atunci lizatul avea două tipuri de A D N, și anume unul cu aceeași densitate cu a

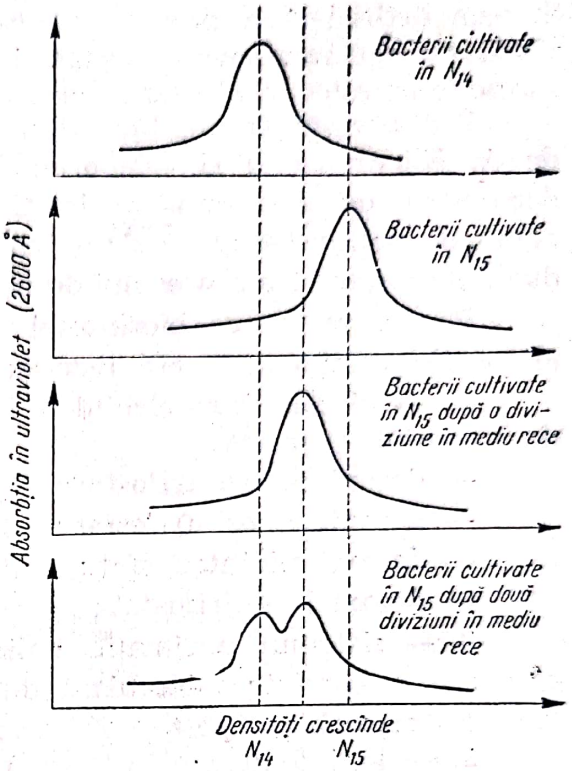



Fig. 166. Studiul replicației ADN la *E. coli* prin folosirea izotopului stabil al azotului $N^{15}$ (după Meselson și Stahl, 1958).

celui care conține $N^{14}$ și altul intermediar. Rezultatele lui M. Meselsohn și F. W. Stahl confirmă pe cele ale lui J. H. Taylor, arătînd că replicarea moleculelor de ADN se efectuează după tipul semiconservator.

*Biosinteza in vitro a ADN* a fost realizată pentru prima oară de către A. Kornberg, I. Lehmann, M. J. Bessman, E. S. Simms (1956), folosind un sistem enzimatic denumit *polimerază*, extras din *Escherichia coli*. Pentru această realizare Arthur Kornberg a fost distins cu Premiul Nobel.

Cercetările privind sinteza artificială a acizilor nucleici au început însă mai înainte. Astfel încă din anul 1948 A. R. Todd a reușit să realizeze, pornind de la bazele azotate și pentozele ce intră în alcătuirea acizilor nucleici, sinteza unor nucleoside pentru ca apoi prin fosforilarea acestora să obțină nucleotide. Ulterior A. R. Todd și colaboratorii au sintetizat dinucleotide, ca, de pildă, dinucleotida monofosfat de timidină. Pentru aceste lucrări el a fost, de asemenea, distins cu Premiul Nobel.

În anul 1956 A. M. Michelsohn și colaboratorii au realizat sinteza unei dinucleotide, și anume adenosină —2'—uridină—5'—fosfat, care după cum se observă conține două baze azotate : adenina și uracilul.

Sinteza artificială a dinucleotidelor este însă foarte greoaie, se realizează cu un randament scăzut, iar produsele ce prezintă interes se găsesc în amestec cu alte componente chimice.

Din această cauză, biosinteza in vitro a A D N realizată în 1956 de A. K o r n b e r g și colaboratorii a însemnat un mare pas înainte, deoarece folosind sistemul enzimatic denumit polimerază s-a reușit obținerea de polinucleotide, cu un înalt grad de polimerizare și cu o productivitate sporită a procesului de sinteză.

Pentru realizarea biosintezei artificiale a A D N sînt necesare următoarele componente ale reacției :

*1.* — dezoxiribonucleotidele celor patru baze azotate sub formă de nucleoside trifosfat :

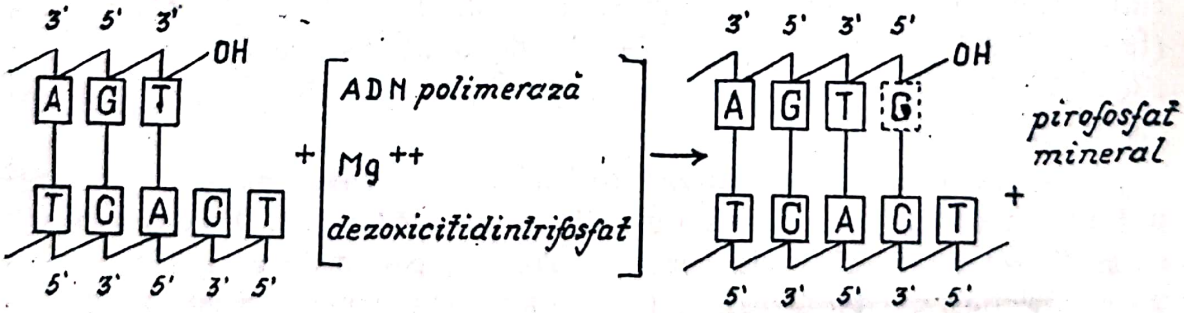
— dezoxiadenozintrifosfat ;
— dezoxiguanosintrifosfat ;
— dezoxitimidintrifosfat ;
— dezoxicitidintrifosfat ;

*2.* — sistemul enzimatic polimeraza extras din *Escherichia coli*, care are o greutate moleculară de aproximativ 100 000 și care a fost purificat prealabil de peste 2 000 ori ;

*3.* — ioni de magneziu ($Mg^{++}$) ;

*4.* — o cantitate mică de A D N cu un înalt grad de polimerizare ce servește drept amorsă și model pentru biosinteza A D N.

În mod schematic, procesul de încorporare a nucleotidelor în lanțul polinucleotidic de A D N poate fi reprezentat, după R. B a l d w i n (1964), astfel :




În condiții favorabile, procesul de biosinteză prezentat mai sus duce la obținerea unei cantități de A D N de 10 ori mai mare decît cea care a servit drept amorsă. În cazul folosirii drept amorsă a unui A D N format din două lanțuri paralele polinucleotidice, este necesară o prealabilă despărțire a celor două lanțuri polinucleotidice (de pildă prin încălzire) pentru ruperea punților de hidrogen.

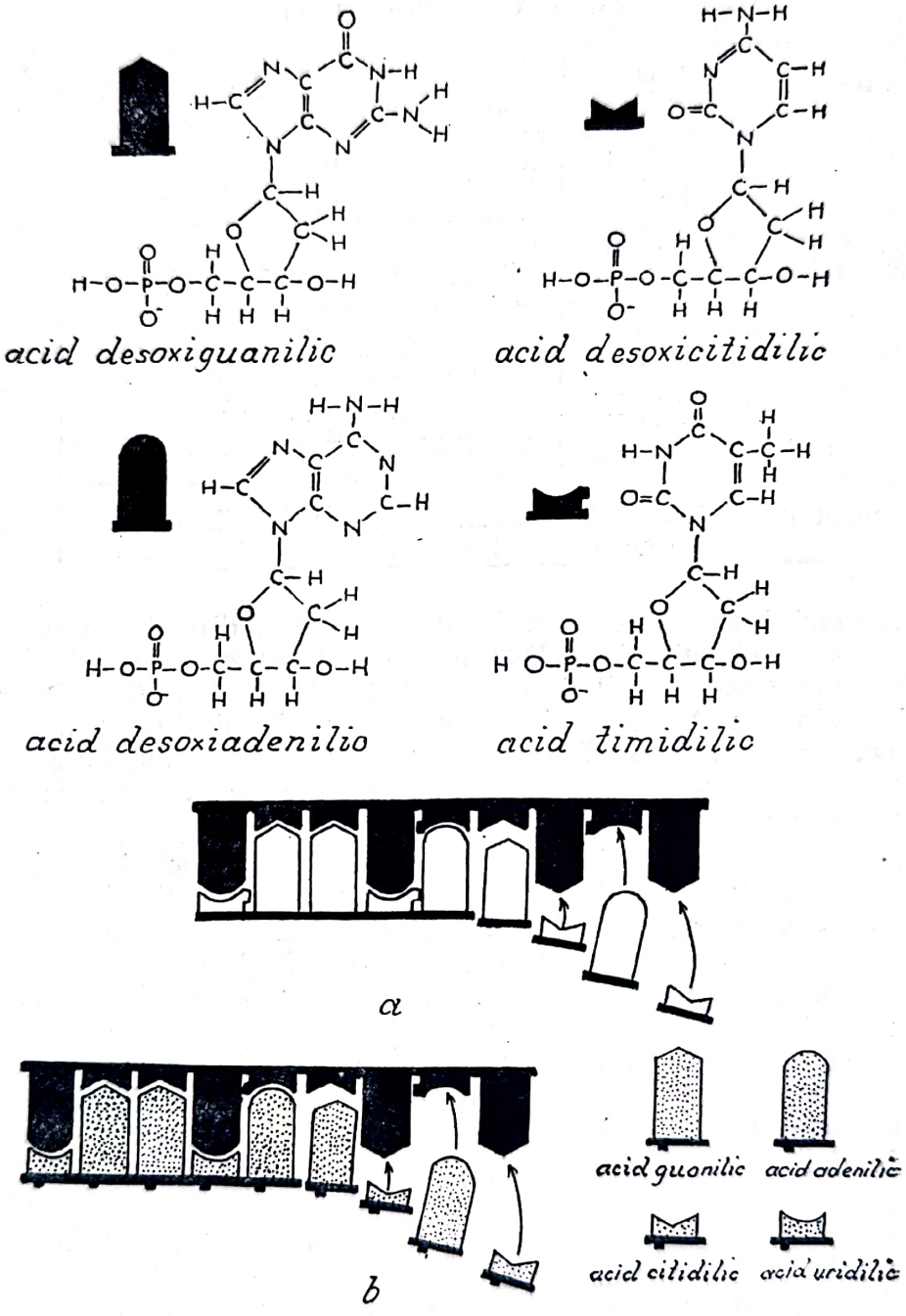



Fig. 167. Sinteza macromoleculelor de ADN (a) și ARN (b).

Scanned with OKEN Scanner

**BIOSINTEZA ARTIFICIALĂ A A D N ÎNTR-UN SISTEM ACELULAR LIBER CU AMORSĂ DE A D N DIN DIFERITE SURSE**

(după A. Kornberg, 1958)

| Sursa de A D N amorsă | Tipul de A D N | Proporţia molară a bazelor azotate | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Adenină | Timină | Guanină | Citozină |
| *Mycobacterium phlei* | original | 0,65 | 0,66 | 1,35 | 1,34 |
| | artificial | 0,66 | 0,80 | 1,17 | 1,34 |
| *Aerobacter aerogenes* | original | 0,90 | 0,90 | 1,10 | 1,10 |
| | artificial | 1,02 | 1,00 | 0,97 | 1,01 |
| *Escherichia coli* | original | 1,00 | 0,97 | 0,98 | 1,05 |
| | artificial | 1,04 | 1,00 | 0,97 | 0,98 |
| Timus de viţel | original | 1,14 | 1,05 | 0,90 | 0,85 |
| | artificial | 1,19 | 1,19 | 0,81 | 0,83 |
| Bacteriofagul T 2 | original | 1,31 | 1,32 | 0,67 | 0,70 |
| | artificial | 1,33 | 1,29 | 0,70 | 0,70 |

Cercetări interesante s-au făcut în această direcţie la unii bacteriofagi ce au molecula de A D N formată dintr-un singur lanţ polinucleotidic, cum este, de pildă, bacteriofagul Ø X 174. Cu ajutorul sistemului enzimatic A D N polimeraza s-a reuşit biosinteza artificială a unui A D N complementar. Dacă reacţia durează timp mai lung, A D N-ul complementar începe să acţioneze ca amorsă şi ca urmare se biosintetizează un A D N identic cu cel original.

Un fenomen foarte interesant, care vine în sprijinul schemei lui J. Watson şi F. Crick privind alcătuirea şi replicaţia macromoleculei de A D N, îl constituie faptul că noul A D N biosintetizat artificial este o copie fidelă a A D N-ului care a servit drept amorsă. De pildă s-a constatat că dacă se foloseşte drept amorsă un A D N artificial conţinînd numai două tipuri de baze (adenina şi timina) într-o succesiune strictă (A T copolimer), atunci A D N-ul sintetizat *de novo* conţine exclusiv timină şi adenină într-o succesiune riguroasă. Celelalte două baze azotate, citozina şi guanina, aflate în mediul de reacţie sub formă de dezoxicitidintrifosfat de dezoxiguanosintrifosfat, rămîn nefolosite în procesul de biosinteză a A D N.

Pe de altă parte s-a constatat că în procesul de sinteză enzimatică a A D N bazele azotate necesare pot fi înlocuite cu analogi ai lor, ca, de pildă, dezoxiribonucleosidtrifosfat de uracil, 5-bromuracil, 5-bromcitozină, hipoxantină etc. Aceşti analogi înlocuiesc întotdeauna numai una din bazele azotate, şi anume aceea al cărei corespondent este, întocmai ca prin tratarea cu aceşti analogi ai A D N din diferite surse naturale.

Scanned with OKEN Scanner

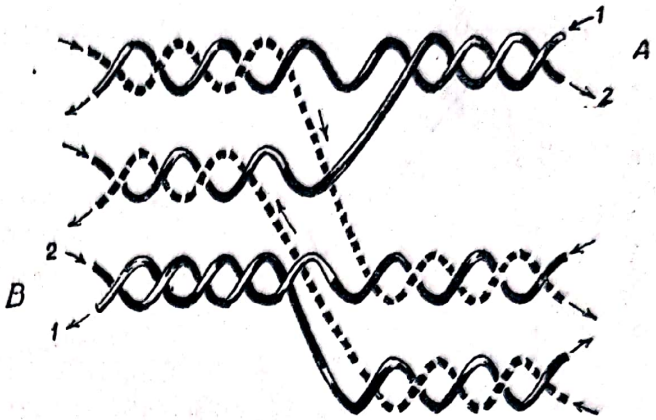



Fig. 168. Schema obținerii unui A D N hibrid.

În sfîrșit identitatea dintre A D N-ul nou sintetizat și A D N folosit ca amorsă poate fi evidențiată prin realizarea unui hibrid între un A D N artificial conținînd numai adenină și timină (A T copolimer) și un A D N artificial conținînd numai adenină și 5-bromuracil. (A $\overline{B\ U}$ copolimer). Ținînd seama că fiecare dintre cei doi A D N artificiali au o stabilitate termică diferită, se constată că A D N-ul hibrid are o stabilitate termică intermediară.

## SINTEZA NATURALĂ ȘI ARTIFICIALĂ A A R N

În celula vie există, după cum s-a arătat, mai multe tipuri de A R N cu greutate moleculară diferită, cu localizare și funcții diferite. Cercetări interesante privind localizarea A R N, prin metoda marcării sale cu izotopi radioactivi, au fost efectuate de M. Z a l o k a r (1960). Ca obiect de cercetare s-a folosit miceliul de *Neurospora,* crescut pe un mediu la care s-a adăugat un precursor al A R N, uridina marcată cu tritiu ($H^3$). Printr-o centrifugare puternică este posibilă separarea diferitelor componente celulare, cum sînt : ribosomii, mitocondriile, nucleii, grăsimile, partea lichidă a citoplasmei etc. S-a constatat că în primele 4 minute radioactivitatea apare exclusiv în nucleu, iar apoi se extinde și la citoplasmă. Uridina fiind un precursor al A R N, aceasta înseamnă că locul de biosinteză al A R N este nucleul, de unde el migrează apoi în citoplasmă.

Rezultate relativ diferite privind locul de biosinteză a A R N au fost obținute de J. T a y l o r (1960), care a folosit metoda microradioautografiei la celulele de hamster în culturi de celule. Folosind, de asemenea, ca precursor A R N uridina marcată cu tritu ($H^3$), s-a constatat că după 5—10 minute de la incubație într-un mediu radioactiv, radioactivitatea apare exclusiv în nucleu. După aceea se observă scăderea radioactivității în nucleu și o mărire progresivă a cantității de radioactivitate în citoplasmă, care depășește după cîtva timp nivelul

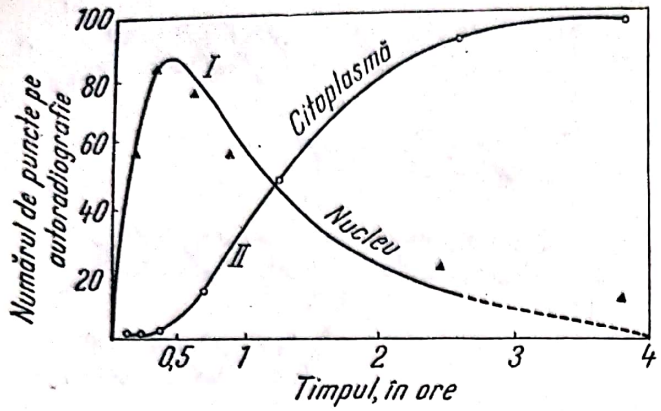



Fig. 169. Variația cantității de A R N marcat cu izotopi radioactivi în nucleu și citoplasmă (după Taylor, 1960).

inițial din nucleu, după cum se vede în graficul alăturat. De aceea J. T a y l o r consideră că biosinteza A R N are loc probabil și în citoplasmă, însă în proporții mult mai reduse decît în nucleu. Se poate astfel conchide că biosinteza A R N are loc în principal, însă nu exclusiv, în nucleu. Trebuie însă precizat că aceste cercetări se referă în special la tipurile de A R N cu greutate moleculară mare, pînă în prezent nefiind bine lămurită problema biosintezei A R N cu greutate moleculară redusă, cum este de pildă, A R N-t.

O altă problemă importantă este cea referitoare la locul din nucleu unde se realizează biosinteza A R N. J. T a y l o r și W o o d s (1959) au studiat biosinteza A R N în nucleu la celulele glandelor salivare de la larvele de *Drosophila repleta*. După cum este cunoscut, cromozomii nu pot fi observați în nucleul interfazic al celulelor, însă în celulele glandelor salivare de la unele insecte există niște cromozomi uriași, politeni, care deși se clivează nu se separă în procesul de diviziune celulară și apoi o dată cu faza de pupă degenerează. Aceste celule cu cromozomi uriași constituie un obiect de cercetare foarte potrivit al biosintezei A R N, deoarece într-o perioadă relativ scurtă volumul nucleului și al citoplasmei se mărește de aproximativ 3 ori, iar volumul nu-

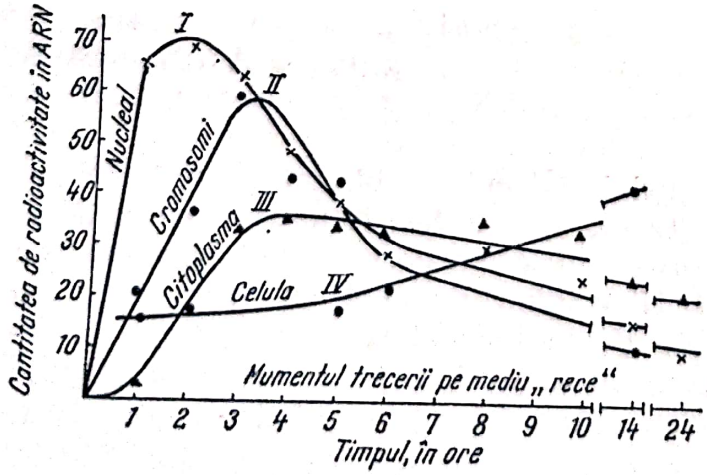



Fig. 170. Viteza biosintezei A R N în diferiți constituienți celulari (după Taylor și Woods, 1961).

celului și al A R N se dublează. J. T y l o r și W o o d s au luat larve de *Drosophila repleta* și le-au pus timp de 2 ore pe un mediu la care au adăugat un precursor al A R N, și anume adenina marcată cu carbon radioactiv ($C^{14}$). După aceea larvele au fost trecute pe un mediu „rece" și după un timp diferit au fost fixate pentru studiu microscopic și efectuarea de microradioautografii. Cercetările lor au arătat, după cum se vede în graficul alăturat, că biosinteza A R N are loc cel mai repede în nucleol, apoi în cromozomi și într-o măsură mult mai mică în citoplasmă.

La virusurile ce nu conțin decît A R N, replicația se face similar cu cea a A D N-ului de la bacteriofagul Ø X 174. Aceasta înseamnă că mai întîi se biosintetizează în celula infectată de virus un A R N complementar și apoi un A R N identic cu al virusului. Cercetări recente ale lui S. O c h o a și colaboratorii au reușit să pună în evidență prezența sistemului enzimatic necesar pentru sinteza A R N complementar.

A R N-ribozomal constituie cea mai importantă fracție de A R N din celulă din punctul de vedere al cantității (cca. 80%). Rolul cel mai important în sinteza A R N-ribozomal îl are nucleolul, fapt pentru care fiecare celulă conține cel puțin un nucleol. Există însă în mod excepțional celule lipsite de nucleoli, cum sînt celulele embrionare precoce care n-au început încă să sintetizeze A R N-r și celulele nucleate ale sîngelui de la amfibieni la care sinteza A R N s-a oprit. Nucleolii celulari dispar însă în momentul cînd materialul nuclear se organizează în cromozomi, pentru ca să reapară la sfîrșitul diviziunii celulare în momentul cînd cromozomii încep să-și piardă individualitatea. Pornindu-se de la această observație, s-a constatat că noii nucleoli apar întotdeauna în regiuni specifice ale unor anumiți cromozomi. Aceste regiuni ale cromozomilor respectivi poartă denumirea de *organizatori nucleolari.* S-a constatat experimental că organizatorul nucleolar conține genele specifice ale A R N-r. După cum se știe, gena este un segment din macromolecula de A D N ce conține codificată informația ereditară respectivă. Succesiunea nucleotidelor dintr-un lanț polinucleotidic al segmentului de A D N determină succesiunea complimentară a nucleotidelor din A R N-ul sintetizat. Pornindu-se de la aceasta, s-a reușit obținerea de molecule hibride A D N—A R N-r în felul următor: s-a extras A D N din celule și apoi prin tratament termic s-au separat cele două lanțuri polinucleotidice. După aceea s-a adăugat A R N-r care dacă este complimentar cu A D N-ul respectiv formează molecule hibride A D N—A R N-r. Cercetările efectuate la broasca cu gheare din Africa de Sud *(Xenopus laevis)* au arătat că numai 1‰ din totalul A D N celular se hibridează cu A R N-ribozomic.

Folosindu-se tehnica hibridării A D N—A R N la broasca *Xenopus laevis,* s-a determinat precis că sinteza A R N-r este determinată de genele respective din regiunea organizatorului nucleolar. În acest scop s-a folosit o mutantă a acestei broaște care în loc să conțină 2 organi-

zatori nucleolari pe cei doi cromozomi ai uneia din cele 18 perechi de cromozomi, conține numai un organizator nucleolar. Prin încrucișarea între 2 indivizi mutanți, 25% din descendență va fi lipsită complet de organizatori nucleolari. Indivizii respectivi sînt anucleolați și ca urmare nu pot sintetiza A R N-r. Într-adevăr, ei trăiesc pe seama A R N-r matern provenit din ou pînă în faza de mormoloc, cînd dezvoltarea lor se oprește și indivizii mor.

Cu ajutorul testului de hibridare A D N—A R N-r la indivizii care conțineau 0-1-2 organizatori nucleolari s-a determinat că există o proporționalitate directă între numărul de organizatori nucleolari și cantitatea de gene ribozomice. Ulterior un fenomen similar a fost demonstrat și la *Drosophila melanogaster*, încît în prezent este pe deplin stabilit faptul că genele ce determină sinteza A R N-r se află în regiunea organizatorului nucleolar.

Biosinteza „in vitro" a A R N a fost realizată pentru prima oară în anul 1955 de către M a r i a n n e G r u n b e r g - M a n a g o și S e v e r o O c h o a la Universitatea din New-York. Pentru reacție sînt necesare următoarele componente :

*1.* — ribonucleotidele celor patru baze azotate sub formă de nucleotide difosfat :

— riboadenozin difosfat ;

— ribouridin difosfat ;

— ribocitidin difosfat ;

— riboguanozin difosfat ;

*2.* — enzima A R N-fosforilaza sau A R N-polimeraza, descoperită de cei doi cercetători în *Azotobacter vinelandii* și care la temperatura de — 18°C poate fi conservată timp de un an. Încălzirea acestei enzime timp de 5 minute la 50°C și *p*H 5,8 duce la reducerea activității ei la jumătate ;

*3.* — ioni de magneziu ($Mg^{++}$).

S-a obținut în urma reacției un tip de A R N artificial, care conține cele patru baze azotate ce se succed mereu într-un anumit fel și cu eliberare de fosfor anorganic. În cazul folosirii unui singur tip de baze, de pildă adenina, s-a obținut un acid nucleic în care această bază se succede mereu și care a fost denumit poli-A. S-au obținut, de asemenea, acizi nucleici artificiali de tip A R N conținînd 2—3 sau 4 baze azotate.

Cercetări ulterioare au dus la identificarea unor enzime asemănătoare A R N-polimerazei descoperită de M. G r u n b e r g - M a n a g o și S. O c h o a în alte microorganisme, ca, de pildă, *Escherichia coli* și *Micrococcus lysodeikticus*. Punerea în evidență a biosintezei A R N cu ajutorul diferitelor enzime de tip A R N-polimerază s-a efectuat cu aju-

torul izotopilor radioactivi astfel: s-au marcat nucleotidele cu $P^{32}$ sau $C^{14}$ și s-au adăugat la mediul de reacție extrase din celule vii de la diferite microorganisme. Nucleotidele sub formă liberă sînt solubile în acid, însă asamblate în A R N ele devin insolubile. În cazul cînd după adăugarea extrasului din celulele vii se forma un precipitat insolubil în acid și radioactiv, aceasta înseamnă că s-a sintetizat un A R N și că probabil în extrasul respectiv se găsesc una sau mai multe enzime capabile să catalizeze reacția respectivă.

Un alt fapt important pus în evidență ulterior cercetărilor lui G r u n b e r g - M a n a g o și O c h o a este că în celulele vii biosinteza A R N se realizează nu pe baza nucleosidelor difosfat, ci pe baza nucleosidelor trifosfat, care aportează o cantitate mai mare de energie necesară reacției. J. H u r w i t z și J. J. F u r t h (1962) au realizat biosinteza A R N pornind de la nucleotidele trifosfat necesare și ca enzimă folosind A R N-polimerază de proveniențe diferite. Totodată ei au pus în evidență legătura dintre A D N și biosinteza A R N. Pornind de la ideea că biosinteza A D N se realizează numai folosind ca amorsă o cantitate oarecare de A D N, ei au constatat că și biosinteza A R N poate fi orientată de către A D N. După cum este cunoscut la A D N raportul între adenină + timină/guanină + citozină este constant pentru o anumită specie, fiind, de pildă, egal cu 4 la *Micrococcus lysodeckticus* și cu 1,3 la glanda timus de la vițel. Folosind drept amorsă pentru biosinteza A R N o mică cantitate de A D N provenit de la *Micrococcus lysodeckticus* sau din glanda timus de vițel, cei doi cercetători au remarcat că A R N biosintetizat avea raportul adenină + uracil/guanină + citozină egal cu 4 în primul caz și egal cu 1,3 în al doilea. Ca urmare se poate considera că A R N-ul biosintetizat este corespondentul A D N-ului care a servit drept amorsă.

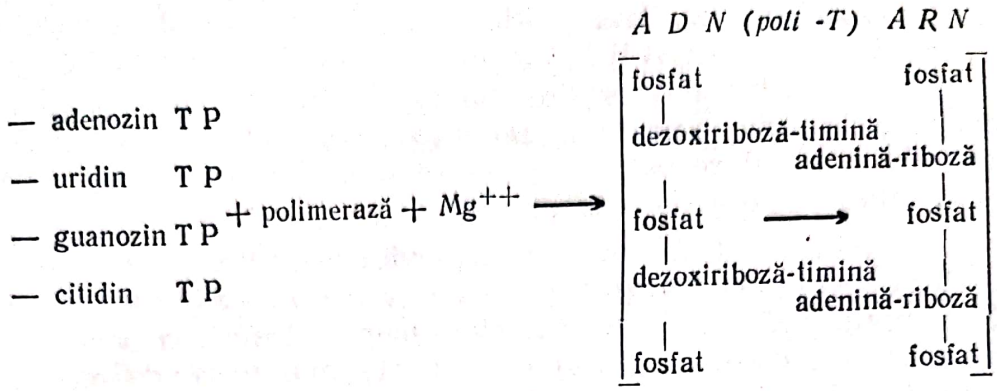
O altă experiență foarte interesantă prin care s-a pus, de asemenea, în evidență rolul A D N în biosinteza A R N a fost efectuată tot de acești doi cercetători, folosind drept amorsă un A D N artificial format numai din succesiunea unui singur tip de baze azotate, și anume timidina (poli-T). Deși în mediul de reacție se aflau toate cele patru tipuri de nucleoside sub formă de trifosfat, s-a sintetizat un A R N format dintr-o succesiune strictă de molecule de adenină, care constituie complementul purinic al timidinei. În acest fel A D N-ul a orientat biosinteza A R N.

Într-o altă experiență s-a folosit ca amorsă A D N artificial format dintr-o succesiune strictă de adenină și timină (copolimer-A T). Cu toate că în mediul de reacție se aflau toate cele patru tipuri de nucleoside sub formă de trifosfat, s-a sintetizat A R N format dintr-o succesiune riguroasă de uracil și adenină, complementul adeninei și respectiv timinei din A D N.

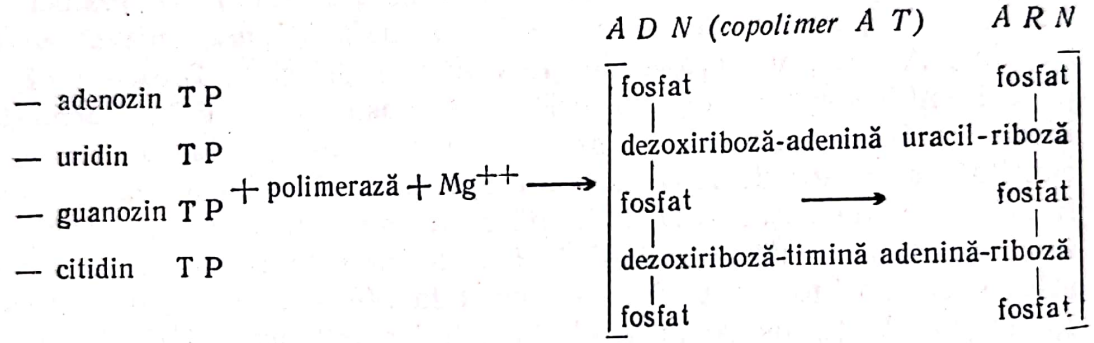
Scanned with OKEN Scanner

Cele două reacţii de biosinteză a A R N orientate de către A D N pot fi redate schematic astfel :

I.




II.




Cercetări similare au mai fost efectuate în S.U.A. de către S. B. Weiss şi A. Stevens, rezultatele ducînd, de asemenea, la concluzia că A D N-ul orientează biosinteza A R N, în sensul că secvenţa bazelor azotate din A D N determină secvenţa bazelor în A R N.

Studiul biosintezei A R N orientat de către A D N a arătat că este posibilă obţinerea unor polinucleotide „hibride" între A D N şi A R N, care sînt rezistente la acţiunea hidrolizantă a ribonucleazei. Care este însă rolul genetic al acestui A R N, pentru a cărui biosinteză este nevoie de o matriţă A D N ?

Pentru a lămuri această problemă, s-au efectuat cercetări la bacteriofagii T 2 şi T 4 al căror A D N conţine în locul citozinei, baza azotată hidroximetilcitozina. Pătruns în interiorul bacteriei gazdă, A D N-ul bacteriofagului trebuie să determine sinteza hidroximetilcitozinei, prin intermediul uneia sau mai multor enzime speciale, fără de care el nu se poate multiplica. Dar sinteza enzimelor respective nu se poate realiza decît prin intermediul unui mecanism care implică prezenţa A R N şi ribosomii bacteriei. Primele cercetări au arătat că după infecţia bacteriei de către bacteriofagul T 2 are loc o biosinteză intensă de A D N de tipul bacteriofagului, însă nu se observă biosinteza A R N. Ulterior problema a fost lămurită de E. Volkin şi L. Astrachan, care au descoperit că după infecţia bacteriei de către bacteriofag are loc un proces foarte rapid de biosinteză a unui A R N a cărui structură reflectă structura A D N-ului bacteriofagului. Acest tip de A R N, denumit A R N-mesager

de Jaques Monod și Francois Jacob de la Institutul Pasteur din Paris, are rolul de a transfera informația ereditară de la A D N la ribosomi unde se sintetizează proteinele și apoi imediat este hidrolizat. De aceea, în primele cercetări A R N-mesager n-a putut fi identificat.

*Cercetările privind biosinteza A R N au arătat astfel că există cel puțin două căi de sinteză : una care este orientată de către A D N și duce la biosinteza A R N-mesager, și alta în care nu este nevoie de prezența A D N și prin care se realizează biosinteza altor tipuri de A R N (A R N-r și A R N-t).*

O experiență remarcabilă în acest domeniu a fost realizată în țara noastră la Institutul de Inframicrobiologie de un colectiv format din R. Portocală, I. Samuel, L. Popa, Ana Morfei și O. Popescu. Acest colectiv a reușit biosinteza artificială a doi acizi nucleici (un A D N și un A R N), folosind un sistem enzimatic extras din celulele tumorale de șoarece, bazele purinice și pirimidinice necesare, molecule bogate în energie de tipul A T P, unii ioni metalici și mici cantități din cei doi acizi nucleici provenite de la virusuri diferite ce au servit drept amorsă. După 6 ore de la începerea reacției s-a obținut sinteza unor noi molecule de acizi nucleici (A D N și A R N) de același tip cu amorsa și care determinau același tip de infecție.

## METODE DE STUDIU AL ACIZILOR NUCLEICI

Pentru studiul acizilor nucleici au fost elaborate diferite metode chimice, fizico-chimice, histochimice, enzimatice etc. Una dintre cele mai vechi metode de identificare a A D N este *metoda Feulgen* elaborată încă în anul 1924 de R. Feulgen și A. Rossenbeck. Principiul acestei metode constă în aceea că după o hidroliză ușoară cu acid clorhidric normal la 60°C, A D N-ul din celulele țesutului respectiv pune în libertate grupe aldehidice. Introducerea acestor celule în reactivul *Schiff*, obținut prin tratarea fuxinei bazice cu acid clorhidric, permite identificarea A D N-ului, care se poate ușor recunoaște după culoarea roșie violacee. Metoda se folosește cu rezultate bune atît la plante cît și la animale, determinînd colorația electivă a nucleilor celulei în care se află A D N și a cromozomilor la celulele în diviziune.

Pentru studiul cantitativ al A D N în celule se folosește *metoda microspectrofotometriei în vizibil și ultraviolet*, puse la punct prima de A. E. Mirsky, Pollister și colaboratorii, iar secunda de T. Caspersson. În acest scop, celulele tratate prin metoda Feulgen se pun la un microscop special, folosind o sursă de lumină monocromatică. Imaginea de studiat este apoi proiectată mărit pe o celulă fotoelectrică care înregistrează o anumită cantitate de curent. După aceea se depla-



Scanned with OKEN Scanner

sează imaginea spre o porțiune a celulei necolorată, în care nu se află deci A D N și se înregistrează din nou cantitatea de curent electric cu ajutorul celulei fotoelectrice. Se compară apoi cantitatea de lumină absorbită în primul caz și în cel de-al doilea, determinîndu-se în mod relativ cantitatea de A D N în celule.

Prin metoda microspectrofotometriei în ultraviolet este posibilă identificarea A D N, A R N, precum și a bazelor purinice, bazelor pirimidinice, nucleosidelor și nucleotidelor. Principiul metodei se bazează pe fenomenul absorbției de către acizii nucleici și componenții lor a luminii ultraviolete cu lungimea de undă cuprinsă între 220 și 300 mμ. Pe această bază se poate trasa un spectru de absorbție al substanței respective în funcție de lungimea de undă a razelor ultraviolete, spectru caracteristic unei anumite substanțe. Microspectrofotometria în ultraviolet este ușurată de faptul că radiațiile ultraviolete cu lungimea de undă de 2 600 Å care sînt cel mai mult absorbite de acizii nucleici, sînt absorbite în cantitate cu totul neglijabilă de către proteine.

*Metoda spectrofotometriei* este o altă metodă ce permite identificarea acizilor nucleici într-o soluție, bazele purinice și pirimidinice fiind acelea care au spectre de absorbție caracteristice. Iată după S i n s h e i m e r (citat după M. P r i v a t d e G a r i l h e, 1963) valorile densității optice micromoleculare ale unor dezoxiribomononucleotide.

**SPECTRELE DE ABSORBȚIE ÎN ULTRAVIOLET AL UNOR DEZOXIRIBOMONONUCLEOTIDE**
(după *Sinsheimer*)

| Lungimea de undă (mμ) | Acid citidilic | | Acid timidilic | Acid adenilic | | Acid guanilic |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | pH 4,3 | pH 5,5 — 7,0 | pH 5,5 — 7,0 | pH 4,3 | pH 5,5 — 7,0 | pH 5,5 — 7,0 |
| 240 | 4,14 | 7,38 | 3,06 | 5,98 | 6,61 | 10,10 |
| 250 | 4,48 | 6,54 | 6,00 | 12,10 | 12,50 | 14,50 |
| 253 | 5,06 | 6,68 | 7,07 | 13,70 | 14,10 | 14,90 |
| 260 | 7,30 | 8,10 | 9,13 | 15,30 | 15,70 | 12,80 |
| 270 | 11,00 | 10,10 | 10,00 | 10,50 | 10,40 | 10,40 |
| 280 | 11,50 | 7,95 | 6,60 | 2,48 | 2,21 | 8,55 |
| 290 | 6,90 | 2,42 | 1,99 | 0,18 | 0,11 | 4,43 |
| 300 | 1,59 | 0,20 | 0,16 | 0 | 0 | 0,36 |

*Metoda electroforezei* pe hîrtie se folosește, de asemenea, pentru studiul acizilor nucleici. Această metodă se bazează pe faptul că substanțele care au sarcină electrică plasate într-un cîmp electric se deplasează în funcție de sarcina lor spre unul din polii curentului. Acizii nucleici au sarcini electrice negative și ca urmare se deplasează spre polul pozitiv

sau anodul curentului. Dacă în cîmpul curentului se plasează o hîrtie specială înmuiată într-o soluție-tampon, nucleotidele care alcătuiesc acizii nucleici se vor separa în felul următor : cele care au sarcini electrice mai mari vor migra mai departe pe hîrtie, în timp ce nucleotidele cu sarcini electrice mai mici vor migra mai puțin. În felul acesta se separă pe hîrtia electroforetică benzile care conțin anumite nucleotide și care pot fi apoi studiate direct la o lampă cu raze ultraviolete, cu lungimea de undă de 2 600 Å, care sînt puternic absorbite de către acizii nucleici.

O altă metodă folosită cu succes în studiul acizilor nucleici este *metoda cromatografiei pe hîrtie*. În acest scop, substanțele care trebuie studiate sînt depuse pe o bucată de hîrtie de filtru specială, care se introduce într-un vas de sticlă închis ermetic, la fundul căruia se află un solvent organic. Ca urmare, hîrtia se saturează cu vapori de solvent, iar substanța de analizat migrează pe hîrtie mai mult sau mai puțin după gradul ei de solubilitate în solvent. În felul acesta, nucleotidele se separă în benzi pe hîrtia cromatografică, ce poate fi apoi analizată în raze ultraviolete, la fel ca în cazul electroforezei.

O variantă a metodei cromatografiei, ce a luat în ultima vreme o mare extindere, este aceea care recomandă nu folosirea hîrtiei, ci a unui strat absorbant foarte subțire format din silice, celuloză, albumină sau derivați ai lor, aplicat pe o placă de sticlă. Aceste plăci se introduc în cuva al cărui fund este acoperit cu solvent și mai departe se continuă la fel ca în cazul hîrtiei cromatografice.

*Metoda sedimentării prin ultracentrifugare* se bazează pe faptul că substanțele cu o masă moleculară mai mare se sedimentează mai repede. Printr-un sistem optic se înregistrează deplasarea substanțelor de studiat în cîmpul gravitațional creat artificial prin centrifugare. Această metodă se folosește pe scară tot mai largă datorită fabricării unor centrifuge cu turații mari, cu sisteme de răcire și cu posibilitatea de a centrifuga cantități mari de soluție. Înregistrarea rezultatelor se face în unități s (Svedberg), care pentru substanțele macromoleculare variază între 1 și 200 *s*. Astfel, de pildă, macromoleculele din virusul mozaicului tutunului care au o greutate moleculară mare, au o constantă de sedimentare de 193 *s* (la 20°C), în timp ce proteina lactoalbumina, cu o greutate moleculară redusă, are constanta de sedimentare de 1,9 *s*.

Pentru identificarea și dozarea acizilor nucleici se folosesc, de asemenea, mai multe metode chimice. Printre aceste metode pot fi citate în primul rînd cele care se bazează pe *dozarea zaharurilor din acizii nucleici*. Astfel M e j b a u m (1939) a pus la punct tehnica dozării ribozei cu orcinol care permite astfel dozarea A R N, iar D i s c h e (1930) a elaborat tehnica dozării A D N prin reacția dezoxiribozei cu difenilamină.

Pentru separarea A R N de A D N se folosește *metoda Schmidt-Tannhauser*, care constă în folosirea unor soluții alcaline diluate care degradează A R N-ul și-l trece în soluție, în timp ce A D N-ul nu este degradat, deși trece și el în soluție. Prin folosirea unui acid, de pildă

acidul tricloracetic, A D N-ul precipită, iar A R N-ul rămîne în soluție. După aceea se determină cantitativ A D N-ul din precipitat și A R N-ul din soluție prin dozarea cantității de fosfor.

Foarte mult folosită în ultima vreme este *metoda enzimatică.* Această metodă se bazează pe folosirea unor enzime care descompun macromolecula acizilor nucleici în fragmente mai mari sau mai mici. Aceste enzime se numesc nucleolitice, deoarece acționează asupra lanțului polinucleotidic. Dintre aceste enzime, un interes deosebit îl prezintă așa-numitele *nucleaze,* care rup legăturile dintre nucleotide, punîndu-le astfel în libertate. Nucleazele sînt de două feluri, și anume : *endonucleaze* care atacă lanțul polinucleotidic în mai multe locuri, rupîndu-l astfel în fragmente, și *exonucleaze* care atacă lanțul nucleotidic începînd de la capete, astfel că se pune în libertate cîte o singură nucleotidă. Pentru a descoperi ordinea nucleotidelor în macromolecula acizilor nucleici, aceștia sînt mai întîi tratați cu endonucleaze pentru a rupe lanțul polinucleotidic în fragmente, și apoi se tratează fragmentele respective cu exonucleaze pentru a elibera cîte o singură nucleotidă, care este apoi ușor identificată.

Metodele variate de studiul acizilor nucleici, elaborate mai ales în ultimii ani, au permis cunoașterea lor aprofundată, biosinteza lor artificială și descoperirea modului cum se realizează transmiterea informației ereditare și biosinteza proteinelor.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL XV

# CODIFICAREA BIOCHIMICĂ ȘI REGLAJUL GENETIC

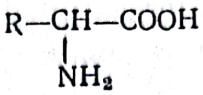
Acizii nucleici și proteinele sînt printre cele mai importante componente ale materiei vii. Unele virusuri sînt alcătuite exclusiv din proteine și acizi nucleici, fapt care probează că viața nu este posibilă în absența acestor substanțe.

O problemă genetică esențială este următoarea: care este legătura metabolică dintre acizii nucleici și proteine, mai ales dacă se ține seama că macromoleculele de A D N sau A R N conțin numai patru tipuri de baze azotate, iar proteinele conțin 20 de tipuri de aminoacizi? Pe baza observației că acizii nucleici au o activitate heterocatalitică, fiind capabili să determine biosinteza unor proteine specifice, s-a studiat nu numai modul cum este înregistrată biochimic informația ereditară în macromoleculele de A D N, ci și modul cum este ea transferată moleculelor de A R N (transcripție), apoi transformată într-o secvență specifică de aminoacizi (translație), precum și cum este reglată cantitatea de proteine sintetizate de organismele vii (reglajul genetic).

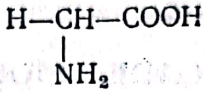
## PROTEINELE ȘI BIOSINTEZA LOR CELULARĂ

În corpul diferitelor viețuitoare a fost descifrată existența unui număr de cîteva zeci de mii de proteine diferite, cu structuri și proprietăți diferite și care îndeplinesc în organism funcții diferite. Aceasta arată că proteinele, ca și acizii nucleici, prezintă o mare diversitate în lumea vie, deși proteinele, după cum este cunoscut, sînt alcătuite din

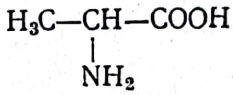
catene în care se succed diferit un număr de numai 20 aminoacizi. Aminoacizii au formula generală :



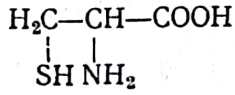
în care radicalul *R* este diferit pentru fiecare din cei 20 de aminoacizi mai importanți. Astfel pentru glicocol, cel mai simplu aminoacid, acest radical este reprezentat de un hidrogen,



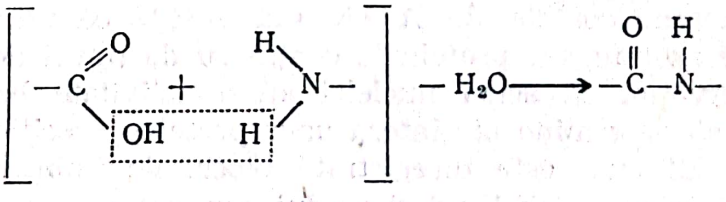
pentru alanină radicalul este reprezentat de o grupare metilică,



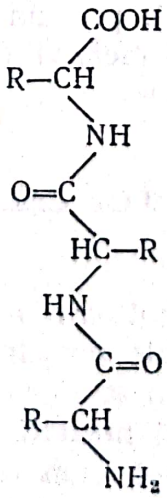
pentru cisteină radicalul este o grupare sulfhidrilică etc.



Prin polimerizarea aminoacizilor se formează macromoleculele liniare, care pot lua apoi forme elicoidale, spirale, globulare etc. Legătura între două molecule succesive de aminoacizi se face prin intermediul unei punți peptidice, care ia naștere în urma reacției între carboxilul unui aminoacid și gruparea aminică a aminoacidului următor, cu eliminarea unei molecule de apă :



Schematic, un fragment de macromoleculă proteică poate fi reprezentată astfel :



În acest fel, prin polimerizare toate funcțiile acid și amină sînt blocate, cu excepția celor de la capetele lanțului polipeptidic. Succesiunea aminoacizilor în lanțul polipeptidic alcătuiește *structura primară* a unei proteine. Dar molecula de proteină este mai complexă și lanțurile polipeptidice formează niște structuri α-helix a căror stabilitate se menține cu ajutorul unor legături de hidrogen între grupele amino (H — N <) și keto (O = C <). În cazul cînd lanțul polipeptidic este simplu răsucit, în α-helix ia naștere așa-numita *structură secundară,* iar cînd răsucirea este dublă se formează *structura terțiară* cu ajutorul unor punți disulfidice (— S — S —). În sfîrșit, prin agregarea unor lanțuri polipeptidice cu structură secundară sau terțiară ia naștere *structura cuaternară* a moleculelor mari de proteină.

Ținînd seama că lanțul polipeptidic cuprinde zeci și chiar sute de aminoacizi aparținînd celor 20 de tipuri mai importante, rezultă că se pot obține un număr imens de combinații care diferă între ele prin proporția în care se află aminoacizii și prin ordinea lor de succesiune. S-a calculat, de pildă, că dacă toți cei 20 de aminoacizi ar intra în proporție egală într-o macromoleculă formată prin înlănțuirea a 1 000 de aminoacizi, numărul de combinații posibile datorită succesiunii diferite a aminoacizilor este reprezentat de un număr cu 900 cifre, iar dacă ar varia atît proporția cît și succesiunea aminoacizilor, atunci numărul combinațiilor posibile ar fi reprezentat de un număr cu 1 300 cifre. Într-adevăr, în natură există un număr mare de proteine la plante, animale, microorganisme și om, care diferă între ele prin ordinea de succesiune și proporția în care se află fiecare din cei 20 de aminoacizi.

## STRUCTURA UNOR PROTEINE

Cercetările efectuate în ultimii ani au reușit să ducă la descifrarea modului de alcătuire a mai multor proteine, operație foarte complicată și extrem de dificilă. Astfel, biochimistul englez F. Sanger și colaboratorii săi au reușit după 10 ani de cercetări să descopere alcătuirea chimică a insulinei, care nu are în macromoleculă decît 51 de aminoacizi și o greutate moleculară de 12 000. Din desenul alăturat se poate observa că schematic insulina este alcătuită din două lanțuri de aminoacizi, răsucite în α-helix, formate primul din 21 de aminoacizi, iar secundul din 30 de aminoacizi. Între cele două lanțuri există două punți de sulf, între aminoacizii de la poziția 7 a ambelor lanțuri și între cel de la poziția 20 a lanțului *A* și poziția 19 a lanțului *B,* precum și o punte de sulf suplimentară între aminoacizii de la pozițiile 6 și 11 ale lanțului *A.*

Mai recent s-a identificat modul de alcătuire a proteinei V M T, care are 157 aminoacizi în macromoleculă, după cum se vede din tabelul

Scanned with OKEN Scanner

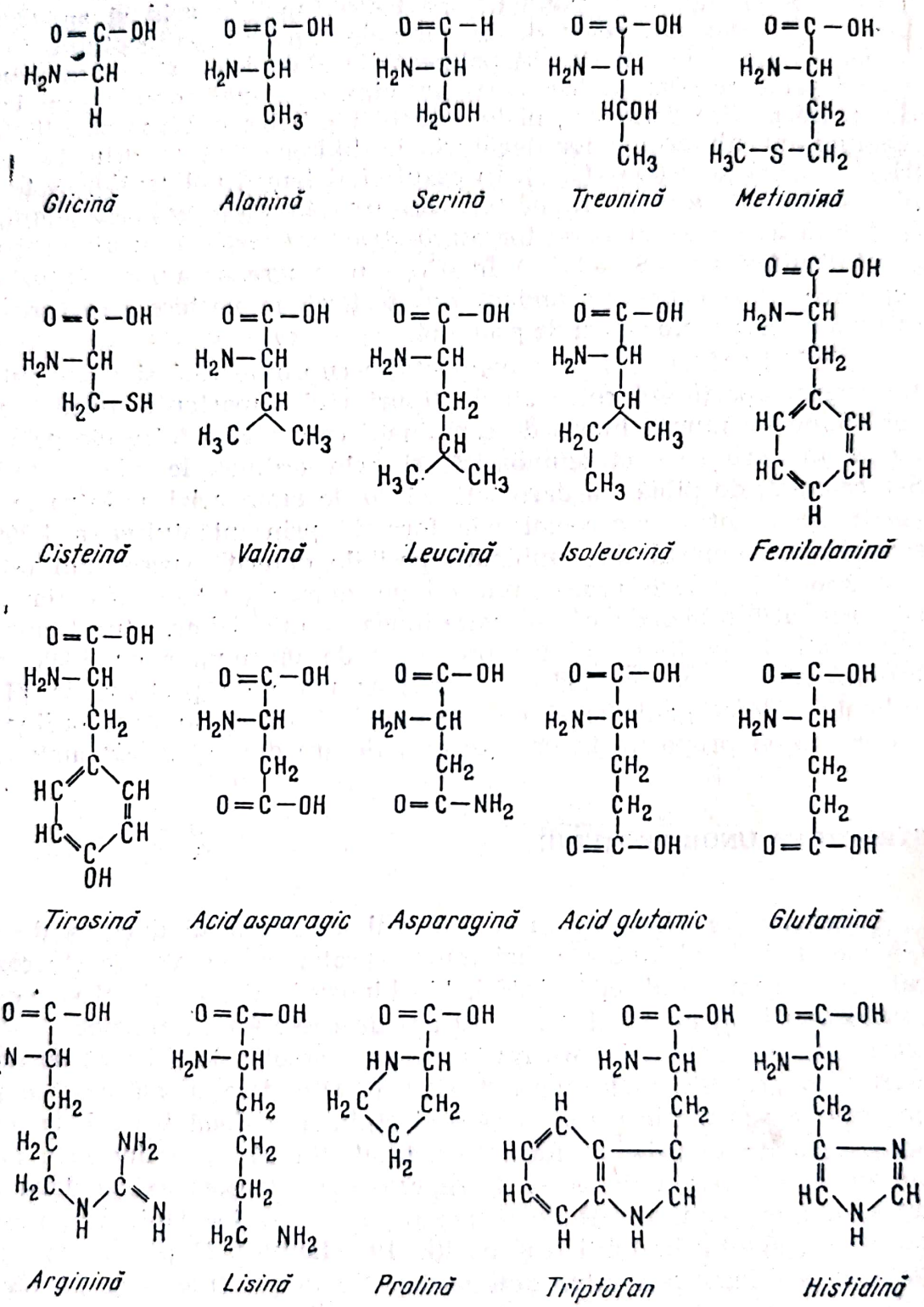



**Fig. 171.** Alcătuirea chimică a celor 20 de aminoacizi mai importanţi.

Scanned with OKEN Scanner

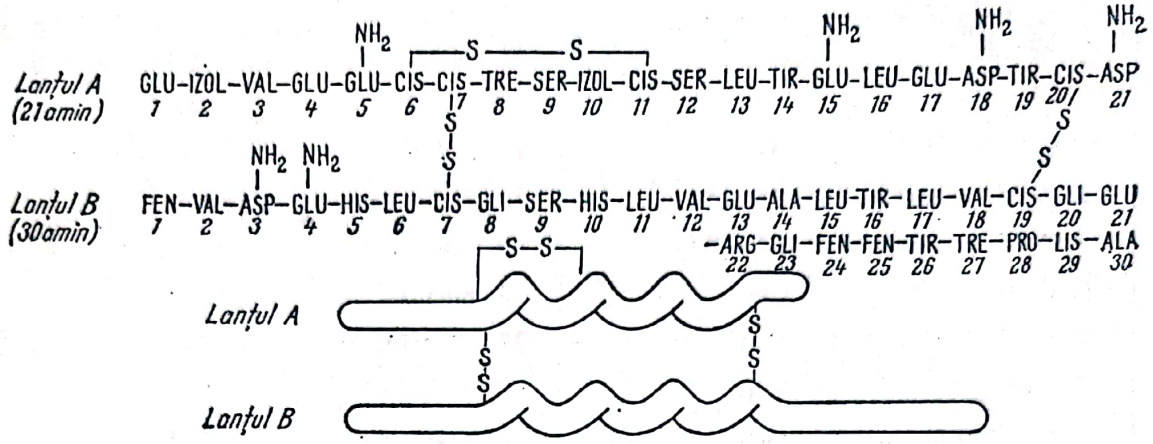



Fig. 172. Schema alcătuirii moleculei de insulină.

de mai jos, și alcătuirea ribonucleazei din ficatul de taur, care are 124 aminoacizi și o greutate moleculară de 13 683.

**SUCCESIUNEA CELOR 157 AMINOACIZI DIN PROTEINA V M T ***
(după *F. A. Anderer* și colab., 1960)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1 Ser. | 33. Asp.$NH_2$ | 65. Ser. | 96. Glu. | 127. Leu. |
| 2. Tir. | 34. Glu. | 66. Asp. | 97. Asp. | 128. Isol. |
| 3. Ser. | 35. Fen. | 67. Fen. | 98. Ala. | 129. Val. |
| 4. Isol. | 36. Glu | 68. Lis. | 99. Glu. | 130. Glu. |
| 5. Tre. | 37. Tre. | 69. Val. | 100. Tre. | 131. Leu. |
| 6. Pro. | 38. Glu. | 70. Tir. | 101. Asp. | 132. Isol. |
| 7. Tre. | 39. Glu.$NH_2$ | 71. Arg. | 102. Pro. | 133. Arg. |
| 8. Ser. | 40. Ala. | 72. Tir. | 103. Tre. | 134. Gli. |
| 9. Glu.$NH_2$ | 41. Arg. | 73. Asp | 104. Ala. | 135. Tre. |
| 10. Fen. | 42. Tre. | 74. Ala. | 105. Glu. | 136. Gli. |
| 11. Val | 43. Val. | 75. Val. | 106. Tre. | 137. Ser. |
| 12. Fen. | 44. Glu. | 76. Asp. | 107. Leu. | 138. Tir. |
| 13. Leu | 45. Val. | 77. Pro. | 108. Asp. | 139. Asp.$NH_2$ |
| 14. Ser | 46. Arg. | 78. Leu. | 109. Ala. | 140. Arg. |
| 15. Ser. | 47. Glu.$NH_2$ | 79. Val. | 110. Tre. | 141. Ser. |
| 16. Ala. | 48. Fen. | 80. Tre. | 111. Arg. | 142. Ser. |
| 17. Tri. | 49. Ser. | 81. Ala. | 112. Arg. | 143. Fen. |
| 18. Ala. | 50. Glu.$NH_2$ | 82. Leu. | 113. Val. | 144. Glu. |
| 19. Asp. | 51. Val. | 83. Leu. | 114. Asp. | 145. Ser. |
| 20. Pro. | 52 Tri. | 84. Leu. | 115. Asp. | 146. Ser. |
| 21. Isol. | 53. Lis. | 85. Gli. | 116. Ala. | 147. Ser. |
| 22. Glu. | 54. Pro. | 86. Ala. | 117 Tre. | 148. Gli. |
| 23. Leu. | 55. Pro. | 87. Fen. | 118. Val. | 149. Leu. |
| 24. Isol. | 56. Ser. | 88. Asp. | 119. Ala. | 150. Val. |
| 25. Asp. | 57. Glu.$NH_2$ | 89. Tre. | 120. Isol. | 151. Tri. |
| 26. Cis.$SO_3H$ | 58. Val. | 90. Arg. | 121. Arg. | 152. Tre. |
| 27. Tre. | 59. Tre. | 91. Asp.$NH_2$ | 122. Ser. | 153. Ser. |
| 28. Asp. | 60. Val. | 92. Arg. | 123. Ala. | 154. Gli. |
| 29. Leu. | 61. Arg. | 93. Isol. | 124. Asp. | 155. Pro. |
| 30. Ala. | 62. Fen. | 94. Glu. | 125. Isol. | 156. Ala. |
| 31. Leu. | 63. Pro. | 95. Val. | 126. Asp.$NH_2$ | 157. Tre. |
| 32. Gli. | 64. Asp. | | | |

*) Prescurtările folosite sînt următoarele :

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1. Alanină | — Ala. | 11. Isoleucină | — Isol. |
| 2. Arginină | — Arg. | 12. Leucină | — Leu. |
| 3. Asparagină | — Asp. | 13. Lisină | — Lis. |
| 4. Acid aspartic | — $Asp.NH_2$ | 14. Metionină | — Met. |
| 5. Acid glutamic | — $Glu.NH_2$ | 15. Prolină | — Pro. |
| 6. Cisteină | — Cis. | 16. Serină | — Ser. |
| 7. Fenilalanină | — Fen. | 17. Tirosină | — Tir. |
| 8. Glicocol | — Gli. | 18. Treonină | — Tre. |
| 9. Glutamină | — Glu. | 19. Triptofan | — Tri. |
| 10. Histidină | — His. | 20. Valină | — Val. |

ALCĂTUIREA RIBONUCLEAZEI EXTRASE DIN FICAT DE TAUR
(după *C. B Anfinsen*, 1959)

| Aminoacidul | Nr. de molecule | Aminoacidul | Nr. de molecule |
|---|---|---|---|
| Asparagină | 15 | Metionină | 4 |
| Glutamină | 12 | Prolină | 4 |
| Glicocol | 3 | Fenilalanină | 3 |
| Alanină | 12 | Tirozină | 6 |
| Valină | 9 | Histidină | 4 |
| Leucină | 2 | Lizină | 10 |
| Isoleucină | 3 | Arginină | 4 |
| Serină | 15 | Grupe $NH_3$ | (17) |
| Treonină | 10 | | |
| Cisteină | 8 | Total aminoacizi | 124 |

Chiar în ceea ce privește aceeași proteină la diferite specii există unele deosebiri în cantitatea și succesiunea aminoacizilor, încît se poate vorbi de o specificitate a proteinelor de același tip. Astfel, cercetările lui F. Sanger și colaboratorii au arătat că insulina provenită de la diferite specii animale prezintă unele modificări în succesiunea aminoacizilor, modificări localizate într-o singură porțiune a lanțului *A*. Iată

în ce constau aceste deosebiri la insulina provenită de la cinci specii de animale diferite :

| | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---|---|---|---|---|---|
| porc ..... | cisteină | — treonină | — serină | — isoleucină | — cisteină |
| taur ..... | cisteină | — alanină | — serină | — valină | — cisteină |
| oaie ..... | cisteină | — alanină | — isoleucină | — valină | — cisteină |
| cal ..... | cisteină | — treonină | — isoleucină | — isoleucină | — cisteină |
| pisică ..... | cisteină | — treonină | — serină | — isoleucină | — cisteină |

După cum se poate observa, deosebirile între insulina de origini diferite se referă numai la aminoacizii din poziția 8—10 a lanțului *A*.

În prezent este cunoscută sau se află în curs de cercetare în diferite laboratoare alcătuirea chimică a peste 100 de proteine diferite, obținîndu-se, de asemenea, rezultate interesante în depistarea deosebirilor dintre proteinele diferitelor specii.

## ACIZII NUCLEICI ȘI ETAPELE BIOSINTEZEI PROTEICE

Cercetările privind modul de alcătuire a macromoleculei acizilor nucleici (A D N și A R N) și proteinelor, precum și descoperirea faptului că acizii nucleici pot determina heterocataliza unor proteine specifice, au dus la ideea că între succesiunea nucleotidelor în acizii nucleici și succesiunea aminoacizilor din proteine există o anumită dependență.

Într-adevăr, ținîndu-se seama că acizii nucleici sînt formați din patru tipuri de nucleotide și că proteinele sînt formate din 20 tipuri de aminoacizi, s-a descoperit legătura dintre acizii nucleici și procesul de biosinteză a proteinelor. Pe baza cercetărilor privind alcătuirea chimică a acizilor nucleici și a experiențelor privind rolul lor în ereditate, s-a ajuns la concluzia că acizii nucleici conțin în macromolecula lor informația ereditară necesară transmiterii caracterelor la descendenți, adică pentru biosinteza unor proteine specifice. După cum banda de magnetofon servește pentru păstrarea unui anumit text alcătuit dintr-o succesiune de cuvinte, tot așa în macromolecula de acizi nucleici se găsește codificată biochimic informația ereditară a viețuitoarelor.

În prezent sînt cunoscute în linii mari *etapele mai importante ale procesului de biosinteză a proteinelor, dirijat de acizii nucleici*. După ce A R N-m este sintetizat în nucleu sub dependența A D N, migrează în citoplasmă, purtînd informația genetică necesară biosintezei proteinelor. În citoplasmă A R N-m se plasează la suprafața ribosomilor, locul cel mai important de biosinteză a proteinelor, formînd poliribozomi sau polisomi.

Dependența biosintezei proteinei de informația ereditară din nucleu a fost bine pusă în evidență în ultima vreme. Astfel, cercetările lui J. Brachet (1955) la alga monocelulară *Acetabularia mediterranea* au arătat că biosinteza proteinelor continuă o perioadă de timp

Scanned with OKEN Scanner

în fragmentele anucleate al acestei alge, însă cu o viteză mai redusă. După aproximativ 20 de zile activitatea biosintetică încetează complet și alga anucleată moare. Dacă însă în acest timp este adus un nucleu și introdus în citoplasma respectivă, în cîteva minute sau chiar secunde alga își reia pe deplin activitatea vitală.

Experiențele lui J. Brachet au fost continuate de D. Mazia și D. M. Prescott, care au determinat cu ajutorul metioninei marcate cu $S^{35}$ viteza de încorporare a acestui aminoacid în proteine. Pe această cale ei au constatat că imediat după îndepărtarea nucleului algei, biosinteza proteinei se realizează în citoplasmă cu o viteză de două ori și jumătate mai mică decît la algele normale. După aceea se observă în mod constant o viteză mai redusă de încorporare a metioninei în fragmentul anucleat comparativ cu alga nucleată.

În ceea ce privește A R N-m, a cărui existență a fost descoperită în 1961 de F. Jacob și J. Monod, s-a constatat că el are o mare capacitate de reînnoire, deoarece la ribosomi care nu manifestă specificitate pentru sinteza unei anumite proteine, el are o viață foarte scurtă. Imediat ce ajunge la ribosomi — care nu sînt specializați pentru sinteza unei anumite proteine — molecula de A R N-m se plasează la suprafața acestora, transferîndu-le astfel specificitatea sa pentru sinteza unei anumite proteine. Într-un interval scurt de timp are loc sinteza a 10—20 molecule din proteina respectivă, după care A R N-m dispare.

C. Levinthal a pus recent în evidență nu numai faptul că molecula de A R N-m este capabilă să determine sinteza a 10—20 molecule de proteină, dar și faptul că biosinteza proteinei este influențată de lungimea moleculei de A R N-m. Astfel, de pildă, în cazul A R N-m format exclusiv din nucleotide de uracil, s-a constatat că moleculele formate din 100 nucleotide sînt mult mai active ca cele formate din 50 nucleotide, activitatea optimă observîndu-se la moleculele formate din 450—700 nucleotide.

Un fapt foarte interesant de semnalat este următorul: deși biosinteza proteinelor este dependentă de informația ereditară din A D N, totuși A R N-ul este acela care intervine direct în proces. Astfel, în cazul virusurilor fitopatogene de tipul V M T, informația ereditară este aportată de A R N, care în acest caz determină biosinteza proteinei și respectiv multiplicarea virusului mozaicului tutunului. De asemenea, s-a observat că în toate celulele sau țesuturile unde are loc un proces rapid de biosinteză a proteinelor, ca, de pildă, în celulele embrionare, țesuturi în curs de regenerare, tumori etc., se remarcă o creștere considerabilă a cantității de A R N. Astfel H. G. Mandel a constatat încă din 1949 că biosinteza proteinelor are loc concomitent cu sinteza A R N. În sfîrșit trebuie citate din nou experiențele lui J. Brachet (1955), care au arătat că biosinteza proteinelor poate avea loc în absența nucleului și respectiv a A D N, însă cu o viteză mai redusă și în cantități limitate.

Scanned with OKEN Scanner

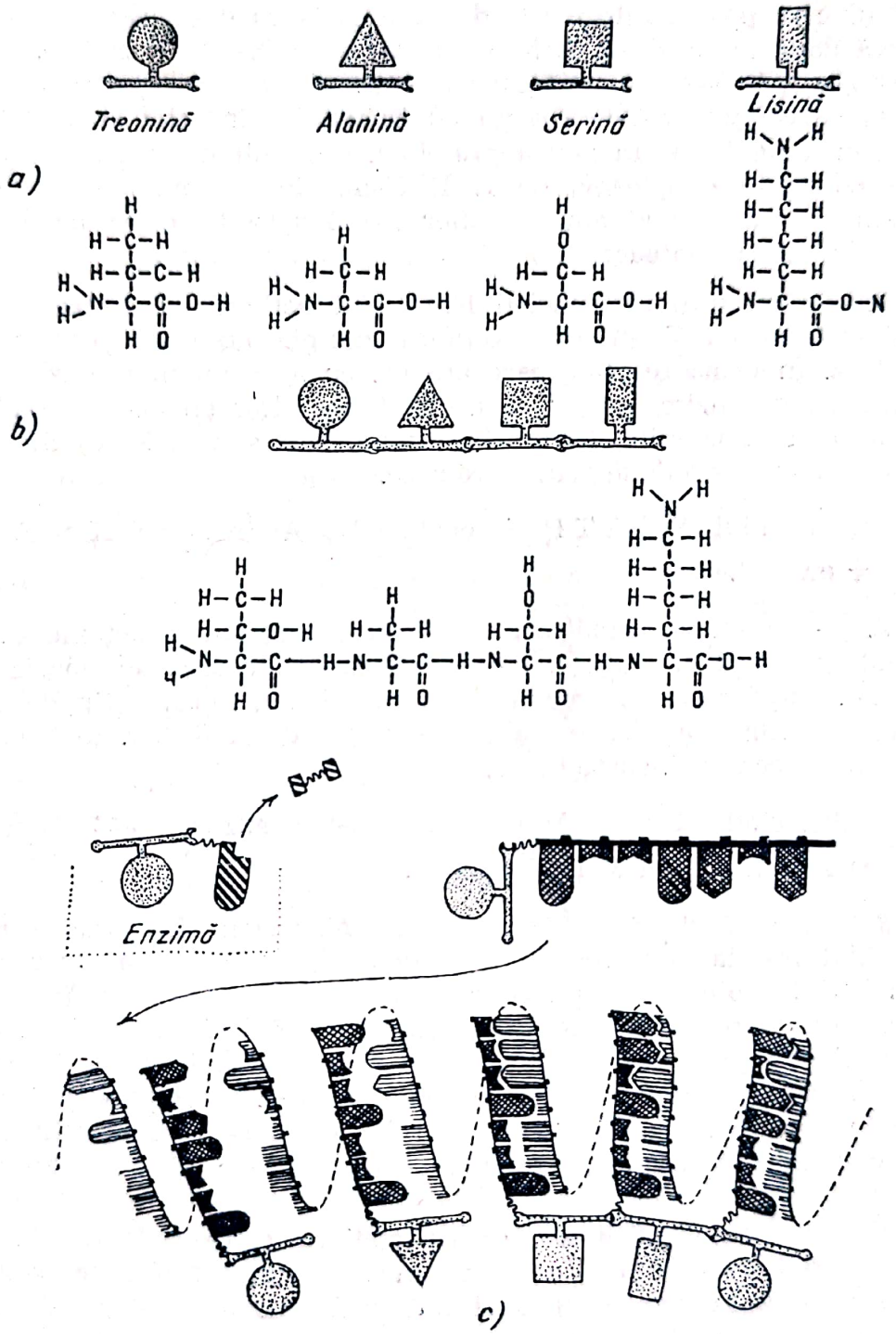



Fig. 173. Schema biosintezei proteinei : aminoacizii (a) se dispun într-un lanț polipeptidic (b) cu ajutorul unor enzime într-o ordine determinată de A D N (c) (după Levine, 1962).

Scanned with OKEN Scanner

În procesul de biosinteză a proteinelor, pe lîngă A R N-m, intermediarul care poartă informaţia de la A D N în citoplasmă, mai intervin încă două tipuri de A R N, şi anume A R N-t şi A R N-r. În ceea ce priveşte A R N-t s-a constatat că acesta are o mare specificitate referitor la capacitatea sa de reacţie cu diferiţi aminoacizi şi cu plasarea sa într-un anumit loc în lanţul proteinei, determinat de informaţia ereditară adusă în citoplasmă de A R N-m. Etapele mai importante în procesul de transfer al aminoacizilor liberi spre locul de biosinteză a proteinelor sînt următoarele :

*1.* — Mai întîi aminoacizii liberi sînt activaţi cu ajutorul adenozintrifosfatului (A T P), care conferă energia necesară procesului de biosinteză. În urma reacţiei, care are loc cu ajutorul unor enzime solubile denumite „enzime *p*H 5" şi a diferitelor altor enzime, se realizează legarea acidului adenilic (adenozină monofosfat sau A M P) de aminoacizi, cu eliberarea a două grupe fosforice.

Aminoacidul X + A T P + enzime $\rightleftarrows$ Aminoacidul X ∞ A M P + + P P + enzime.

*2.* — În etapa următoare, aminoacidul activat reacţionează cu o moleculă de A R N-t, astfel că se realizează ataşarea aminoacizilor de A R N-t. După cum s-a constatat în ultimii ani, fiecărui tip de aminoacid îi corespunde unul sau mai multe tipuri de A R N-t. Reacţia poate fi prezentată schematic astfel :

Aminoacidul X ∞ A M P + A R N-t + enzime $\rightleftarrows$ aminoacidul X ∞ A R N-t + A M P + enzime.

*3.* — În sfîrşit, în ultima etapă, aminoacizii sînt transportaţi de către A R N-t la poliribosomi sau polisomi, unde are loc încorporarea lor în lanţul proteinei. După cum s-a arătat, ribosomii sînt formaţi din ribonucleoproteine, în ei găsindu-se un tip de A R N denumit A R N-r. Cercetările de pînă acum par să indice că ribosomii n-au specificitate pentru biosinteza unei anumite proteine şi că în acest proces ei se grupează în polisomi, neavînd decît un rol de suport al procesului respectiv, informaţia ereditară şi respectiv codul genetic fiindu-le aportat de către A R N-m.

După ce aminoacizii sînt transportaţi de către A R N-t la suprafaţa ribosomilor, A R N-t este pus în libertate, astfel că el poate lua din nou parte la transferul unei alte molecule de aminoacid la locul de biosinteză a proteinelor.

Cu ajutorul energiei furnizate de moleculele de adenozintrifosfat (A T P), al acizilor ribonucleici solubili sau de transfer (A R N-t) şi al informaţiei ereditare din A R N-m transferată ribozomilor, este posibilă

unirea aminoacizilor într-un lanț polipeptidic. Iată schematic acest proces în cazul a doi aminoacizi (a a) :

| |
|---|
| I a a (1) + A T P ⟶ a a (1) ~ A M P (adenozinmonofosfat) + P P (pirofosfat)<br>a a (1) ~ A M P + A R N-t (1) ⟶ a a (1) ~ A R N-t (1) + A M P |
| II a a (2) + A T P ⟶ a a (2) ~ A M P + P P<br>a a (2) ~ A M P + A R N-t (2) ⟶ a a (2) ~ A R N-t (2) + A M P |
| III a a (1) ~ A R N-t (1) + a a (2) ~ A R N-t (2) $\xrightarrow{\text{poliribozomi}}$ a a (1) ~ a a (2) +<br>A R N-t (1) + A R N-t (2) |

O întrebare interesantă este următoarea : cine determină ca aminoacidul atașat de A R N-t să se plaseze într-un anumit loc în lanțul proteinei ? Cercetări speciale efectuate în acest scop au demonstrat că A R N-t este acela care determină specificitatea plasării aminoacidului în lanțul proteinei și nu aminoacidul însuși. F. Chapeville și Lipmann (1963) au folosit doi aminoacizi foarte apropiați ca alcătuire chimică, și anume alanina și cisteina. Deosebirea dintre acești doi aminoacizi este că cisteina are în plus un radical sulfuric prin a cărui îndepărtare, de exemplu cu ajutorul nichelului drept catalizator, ea se transformă în alanină. Aminoacidul cisteină are codul genetic U G U și U G C, iar alanina G C U , G C C, G C A și G C G. După ce cisteina marcată cu $C^{14}$ a fost atașată de tipul ei special de A R N-t s-a folosit nichelul drept catalizator și ca urmare cisteina a pierdut radicalul sulfuric și s-a transformat în alanină. Cu toate acestea s-a constatat că ea a fost înglobată în proteină în locul cisteinei (cu ajutorul tripletei U G U) și nu al alaninei (tripleta G C U).

O problemă importantă legată de procesul de biosinteză a proteinelor este cea privind *reacția eliberatoare de energie*. După cum se știe, glucoza, combustibilul de bază al organismului viu, este descompusă în citoplasmă pînă la acidul piruvic. În interiorul mitocondriilor, acidul piruvic intră într-un proces de hidroliză, denumit *ciclul lui Crebs*, prin care se eliberează energie și se produce $CO_2$ și $H_2O$. Energia eliberată este transferată adenozindifosfatului (A D P), care este astfel fosforilat și transformat în adenozintrifosfat (A T P). Dacă nu se realizează fosforilarea A D P, energia eliberată în ciclul lui Crebs se pierde sub formă de căldură. Energia acumulată în A T P este eliberată cînd celula are nevoie, de pildă în procesul de biosinteză a proteinelor, prin descompunerea moleculei în A D P sau A M P, cu punerea în libertate a uneia sau respectiv două grupe fosforice.

Scanned with OKEN Scanner

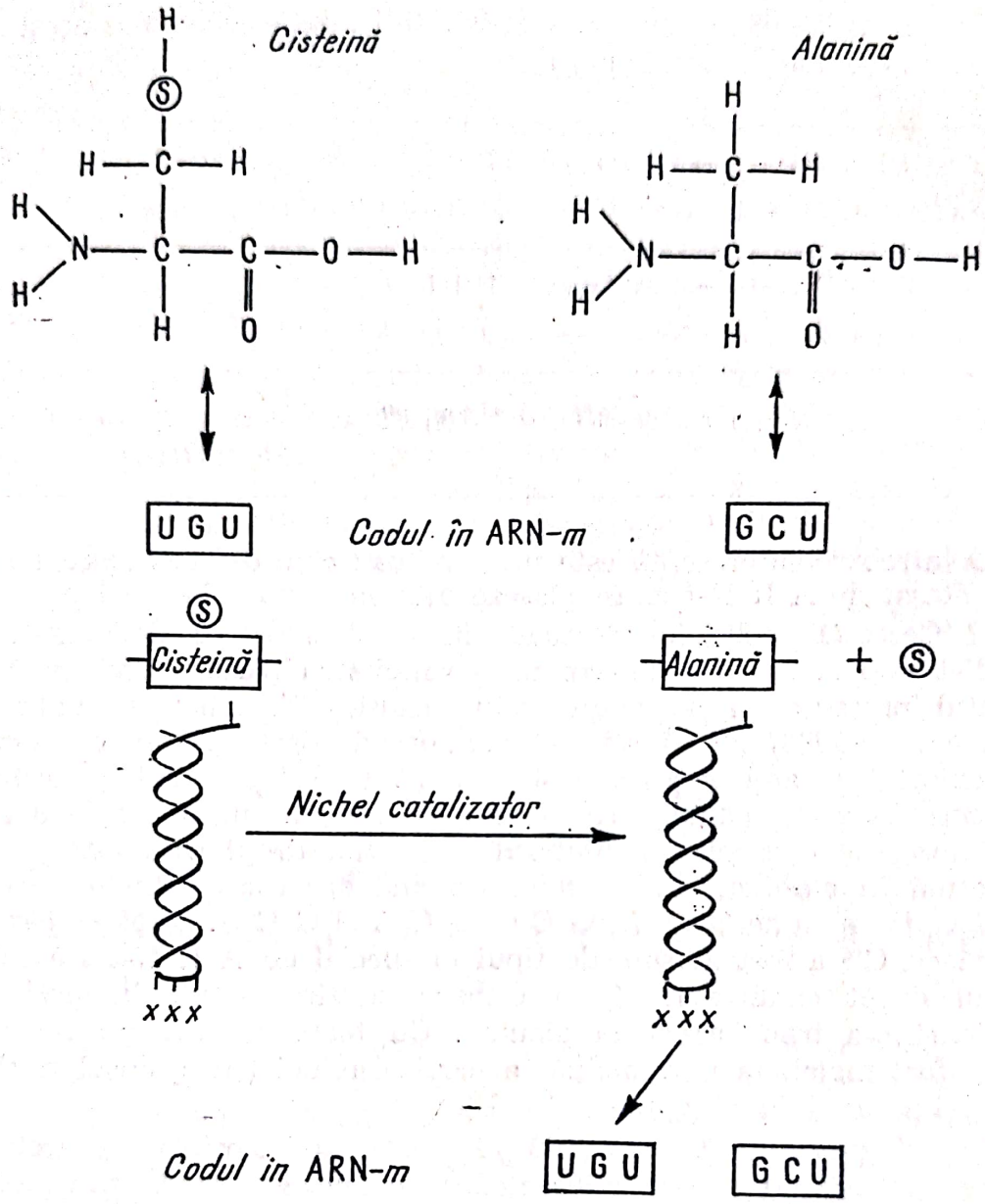



Fig. 174. Schema experienței lui Chapeville și Lipmann (1963).

## VITEZA ȘI LOCUL DE BIOSINTEZĂ PROTEICĂ

În ceea ce privește viteza și locul procesului de biosinteză a proteinelor s-a constatat că reacția are loc foarte repede, și anume în curs de cîteva secunde pînă la cîteva minute. Astfel, prin marcarea proteinelor sintetizate în celulele de *Escherichia coli* cu $S^{35}$ s-a constatat că întreg procesul se realizează în numai 5 secunde. Studiul in vivo al includerii aminoacizilor marcați în proteinele din celulele frunzelor de

tutun a arătat că radioactivitatea apare în primele minute și în cea mai mare cantitate în ribozomi. Aceasta arată că *locul principal de biosinteză a proteinelor îl constituie ribozomii.*

Cercetările din ultima vreme au pus în evidență că ribozomii și unitățile lor componente constituie centre de biosinteză a proteinelor și au în același timp rolul de matriță ce determină succesiunea specifică a aminoacizilor. Cele mai importante fapte în sprijinul acestei afirmații sînt următoarele :

*1.* — Viteza procesului de biosinteză a proteinelor este direct proporțională cu cantitatea de ribozomi.

*2.* — În sistemele acelulare libere este necesară prezența ribozomilor pentru a se realiza biosinteza proteinelor.

*3.* — Proteinele nou sintetizate sînt asociate cu ribozomi.

Ribozomii nu sînt însă singurele centre de biosinteză a proteinelor. *La plante, biosinteza proteinelor are loc într-o măsură însemnată în cloroplaste, care sînt în același timp centre de fotosinteză.* Într-o experiență în care carbonul radioactiv ($C^{14}$) s-a folosit inclus în surse diferite s-au constatat următoarele : prin folosirea de $C^{14}O_2$, carbonul radioactiv a fost depistat în proteinele sintetizate în cloroplaste, iar prin folosirea aminoacidului glicocol marcat, carbonul radioactiv a fost inclus în proteinele sintetizate în microzomi. S-a dovedit astfel că aminoacizii ce rezultă în procesul fotosintezei ca rezultat al fixării carbonului atmosferic pot fi folosiți nemijlocit în procesul sintezei proteinelor direct în cloroplaste, independent de microzomi. Pe de altă parte, faptul că aminoacizii exogeni sînt incluși în microzomi foarte rapid și acolo iau parte la biosinteza proteinelor, dovedește că cloroplastele și microzomii sînt centre independente de biosinteză a proteinelor.

*Un alt centru relativ important al biosintezei proteinelor îl constituie mitocondriile.* S-a constatat, de pildă, că mitocondriile bogate în A R N obținute prin centrifugare diferențiată la 105 000 g timp de 8 ore sînt centre de biosinteză proteică, incluzînd rapid aminoacizii marcați cu $C^{14}$ sau $S^{35}$. La bacterii biosinteza proteinelor se realizează și în membrana celulară.

În sfîrșit, relativ recent s-a pus în evidență că *proteinele pot fi sintetizate și în nucleu.* Experiențele efectuate de către M. Zalokar (1960) la *Drosophila melanogaster* au arătat că biosinteza proteinelor începe mai întîi în citoplasmă și ceva mai tîrziu în nucleu. După cîte se pare în nucleu sînt biosintetizate numai anumite proteine, deoarece s-a constatat că includerea aminoacizilor marcați se face diferențiat în proteinele din citoplasmă și cele din nucleu.

În concluzie trebuie arătat că deși în celulă există mai multe centre de biosinteză a proteinelor, totuși *cea mai mare cantitate de proteine este biosintetizată la nivelul ribozomilor,* care apar astfel ca cel mai important loc în care se realizează acest proces.

## BIOSINTEZA IN VITRO A PROTEINELOR

Procesul de biosinteză a proteinelor a fost studiat și „in vitro" într-un extract acelular de *Escherichia coli*. Iată, după M. W. Nirenberg (1963), cum s-a realizat experiența: bacteriile au fost crescute repede pe un mediu de care s-au separat apoi prin centrifugare. După aceea ele au fost mojarate cu oxid de aluminiu pentru a realiza spargerea celulelor, obținîndu-se astfel un sistem acelular proaspăt care conținea: A D N, A R N-m, ribozomi, enzime etc. Dacă se adaugă adenozintrifosfat (A T P), care constituie sursa de energie, sistemul este capabil să realizeze încorporarea de aminoacizi în proteine, fenomen care poate fi urmărit prin marcarea unor aminoacizi cu $C^{14}$. În primul rînd s-a constatat că biosinteza proteinelor este oprită prin adăugarea enzimei dezoxiribonucleaza, care distruge A D N-ul. În al doilea rînd s-a constatat că prin folosirea unui A R N sintetizat artificial cu ajutorul A R N-fosforilazei se poate realiza biosinteza unui tip determinat de proteine. N. W. Nirenberg și J. H. Matthaei (1961) au sintetizat artificial un A R N conținînd numai nucleotide în alcătuirea cărora intra uracilul, denumit poli-U. Cei douăzeci de aminoacizi care intră în alcătuirea proteinelor au fost marcați apoi succesiv cu $C^{14}$ în așa fel încît unul singur era marcat, iar ceilalți 19 erau reci. Pe această cale s-a determinat că poli-U a determinat biosinteza proteinei polifenilalanina, în alcătuirea căreia a intrat numai aminoacidul fenilalanina.

Aceste cercetări au fost continuate și dezvoltate de S. Ochoa și colaboratorii (1962), M. Bretscher, M. Grunberg-Manago (1962) și M. W. Nirenberg, J. H. Matthaei, O. W. Jones (1962), care au reușit să sintetizeze artificial A R N format nu numai dintr-un singur tip de baze azotate, ci și din două tipuri de baze azotate, cu ajutorul cărora au putut obține includerea în molecula proteinei a anumitor aminoacizi. Iată sintetizate rezultatele obținute de ei:

| Bazele din A R N sintetic | Aminoacizii codificați de acești A R N |
|---|---|
| poli — U | fenilalanina |
| | leucina (în măsură mai redusă) |
| poli — A | lisina |
| poli — C | prolina |
| poli — G | — |
| poli — U A | fenilalanina (codificată numai de prima bază din succesiune) |
| | lisina (codificată numai de a doua bază din succesiune), |
| | tirosina |
| | leucina |
| | isoleucina |
| | asparagina |

| Bazele din A R N sintetic | Aminoacizii codificați de acești A R N |
|---|---|
| poli — U C | fenilalanina (codificată numai de prima bază din succesiune)<br>prolina (codificată numai de a doua bază din succesiune)<br>leucina<br>serina |
| poli — U G | fenilalanina (codificată numai de prima bază din succesiune)<br>leucina<br>valina<br>cisteina<br>triptofan<br>glicocol |
| poli — A C | lisina (codificată numai de prima bază din succesiune)<br>prolina (codificată numai de a doua bază din succesiune)<br>histidina<br>asparagina<br>glutamina<br>treonina |
| poli — A G | lisina (codificată numai de prima bază din succesiune)<br>acidul glutamic<br>arginina<br>glutamina<br>glicocol |
| poli — C G | prolina (codificată numai de prima bază din succesiune)<br>arginina<br>alanina |

În acest fel s-a dovedit experimental că diferite tipuri artificiale de A R N sînt capabile să determine polimerizarea anumitor aminoacizi în molecula proteică. De asemenea, în cazul A R N format din două tipuri de baze azotate, dacă se știe cantitatea procentuală în care fiecare din aceste baze intră în alcătuirea A R N-ului respectiv, se poate calcula teoretic tipul tripletelor și respectiv a aminoacizilor codificați. Iată un exemplu (după N. W. N i r e n b e r g) de calcul : dacă poli-UC conține 70% uracil și 30% citozină, probabilitatea pentru prezența tripletelor U-U-U este egală cu 0,7×0,7×0,7, adică 0,34. Aceasta înseamnă că 34% din molecula de A R N conține triplete U-U-U. Probabilitatea prezenței tripletelor U-U-C este egală cu 0,7×0,7×0,3, adică 0,147, ceea ce corespunde la 14,7% triplete U-U-C în molecula de A R N.

## TRANSCRIPȚIA ȘI TRANSLAȚIA INFORMAȚIEI GENETICE

Problema transcripției și translației informației genetice se referă de fapt în concepția actuală a geneticii moleculare la mecanismul acțiunii genelor asupra biosintezei proteinelor specifice. Aceasta deoarece cele mai importante procese ale metabolismului sînt conduse de o seamă de enzime proteice.

În celulă are loc permanent un transfer al informației genetice de la A D N la A R N-m și apoi cu ajutorul A R N-t și ribozomilor se realizează biosinteza unor polipeptide specifice. Acest proces de transfer al informației genetice are două etape importante, și anume transcripția și translația.

*Prin transcripție se înțelege transferul informației genetice de la unul din lanțurile polinucleotidice ale A D N la un lanț polinucleotidic complementar constituit de A R N-m.* În sprijinul tezei că într-adevăr în celulă se realizează un astfel de transfer al informației genetice de la A D N la A R N-m sînt următoarele fapte :

*1)* La algele și amoebele enucleate, biosinteza proteinelor continuă încă timp îndelungat.

*2)* Reducerea sintezei A D N nu este corelată cu reducerea imediată a biosintezei proteinelor în timp ce oprirea sintezei A R N determină o stopare imediată a sintezei proteice.

Pe baza acestor fapte și a altora F. J a c o b și J. M o n o d (1961) au propus conceptul despre *A R N -mesager* și au reușit să demonstreze experimental existența și modul său de acțiune. După cum se știe, în celule există trei tipuri de A R N, care pot fi separate după greutatea moleculară, în gradientul de densitate. Astfel prin centrifugarea cu 40 000 ture pe minut timp de trei ore a unei culturi de bacterii se separă un sediment bogat în ribozomi, care conține aproximativ 80% din A R N-ul celular și care are o greutate moleculară cuprinsă între 600 000 și 1 200 000. În supernatant se află A R N solubil sau de transfer (A R N-t) cu o greutate moleculară de aproximativ 25 000 și care reprezintă circa 2% din cantitatea totală de A R N. În sfîrșit prin centrifugarea sedimentului ribozomal este posibilă separarea A R N-mesager, care are greutatea moleculară de 500 000, reprezintă aproximativ 20% din totalul cantității de A R N celular și are aceeași proporție a bazelor azotate $\left(\frac{G+C}{A+U}\right)$ ca și A D N $\left(\frac{G+C}{A+T}\right)$, fiind însă format dintr-un singur lanț polinucleotidic.

Faptul că A R N-m este complementar cu unul din lanțurile polinucleotidice ale A D N a fost demonstrat direct cu ajutorul *testului de hibridare.* Metoda constă în următoarele : se marchează A R N-m cu $P^{32}$ și apoi este incubat cu A D N la care cu ajutorul temperaturii de 55—60°C s-a realizat separarea celor două lanțuri nucleotidice. Dacă în experiență se folosește A R N-m și A D N de la aceeași specie se

realizează încet un *hibrid A R N-A D N* între A R N-m și lanțul complementar din A D N. Apoi A R N nehibridizat poate fi distrus printr-un tratament cu ribonuclează, iar hibridul A R N-A D N poate fi identificat prin prezența $P^{32}$ și prin greutatea moleculară foarte apropiată de A D N. Hibridarea reușește numai în cazul folosirii de A D N și A R N de la aceeași specie.

Un alt fapt important îl constituie descoperirea că *A D N este capabil să inducă sinteza A R N-m complementar.* Cercetările s-au făcut pe un sistem bacterian acelular, în care s-a identificat un *A D N — dependent de A R N polimerază* care în prezența A D N, a ionilor de $Mg^{++}$ și a celor 4 tipuri de nucleoside trifosfat catalizează sinteza A R N-m cu o secvență a nucleotidelor identică cu cea a A D N. Cercetările efectuate in vivo prin metoda hibridării A R N-A D N au demonstrat precis că *numai un lanț polinucleotidic al A D N este transcris în A R N -m complementar.* În ceea ce privește funcția lanțului polinucleotidic care nu este transcris se consideră că aceasta constă în corectarea greșelilor în secvența nucleotidelor la lanțul A D N transcris și are importanță în procesul replicației.

În ceea ce privește mărimea mesajului transcris în A R N-m se consideră că *macromolecula de A R N-m care este formată din $10^4$ nucleotide conține informația genetică pentru mai multe proteine înrudite nu ca structură, ci ca funcție, ele alcătuind un operon.* Astfel, de pildă, operonul histidinei este format din aproximativ 13 000 nucleotide și conține 10 cistroni care controlează biosinteza a 10 enzime diferite.

A R N-m are o viață scurtă de numai cîteva minute, timp în care se formează aproximativ 15 molecule proteice, după care el este depolimerizat.

*Translația este procesul prin care secvența celor patru tipuri de nucleotide din A R N-m este transformată în secvență specifică a celor 20 de tipuri de aminoacizi din lanțul polipeptidic.* Translația se realizează în principal cu ajutorul A R N-t și a ribozomilor.

Molecula de A R N-t are greutatea moleculară de aproximativ 25 000, are o cantitate egală de baze purinice și pirimidinice (raportul este egal cu 1), iar raportul $\left(\frac{A+U}{G+C}\right)$ este constant la toate tipurile de A R N-t și egal cu 0,6. Parțial molecula de A R N-t este formată dintr-un lanț polinucleotidic dublu. Molecula de A R N-t are o mare stabilitate și se hibridează cu A D N din aceeași specie în proporție de numai 0,023% din macromolecula de A D N. Aceasta arată că probabil sinteza A R N-t este controlată de o mică regiune specifică a A D N.

Toate moleculele de A R N-t încep cu o nucleotidă cu guanină și se termină cu o tripletă de nucleotide formată din : *citozină-citozină-adenină* (C-C-A). Aminoacizii sînt mai întîi activați prin cuplarea lor cu moleculele de A T P bogate în energie prin intermediul unei enzime specifice,

Scanned with OKEN Scanner

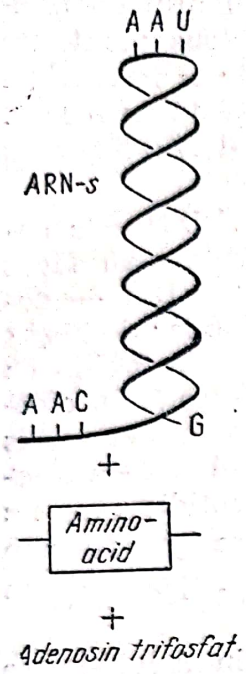



Fig. 175. O moleculă de A R N-t, împreună cu un aminoacid și o moleculă de A T P, gata pentru transferul aminoacidului la locul de sinteză proteică.

denumite aminoacil — A R N-t — sintetaza. Ținînd seama că există 20 de tipuri de aminoacizi, numărul de tipuri de A R N-t trebuie să fie cel puțin egal cu 20, iar al enzimelor aminoacil — A R N-t — sintetaza trebuie, de asemenea, să fie egal cel puțin cu 20. În realitate există 64 de tipuri de A R N-t, corespunzătoare celor 64 de codoni care codifică cei 20 de aminoacizi, datorită faptului că codul genetic este degenerat. Complexul aminoacid — A M P — enzimă reacționează cu A R N-t corespunzător, grupul carboxil al aminoacidului este esterificat, iar enzima și A M P sînt eliberate.

Molecula de A R N-t are într-o regiune simplă în care nu există un lanț polinucleotidic dublu o tripletă de nucleotide care se combină cu o tripletă complementară a A R N-m. În timp ce tripleta de nucleotide din A R N-m ce codifică un anumit aminoacid poartă denumirea de *codon*, tripleta complementară din ARN-t se cheamă *nodoc*.

În ceea ce privește *ribozomii*, ei consistă în aproximativ 60% A R N-r și 40% proteine, avînd o structură aproape sferică de dimensiuni variabile în funcție de celulele din care provin. A R N-r poate, de asemenea, să formeze hibrizi A R N-r—A D N cu o anumită regiune a macromoleculei de A D N ce reprezintă 0,1% din mărimea acesteia și care este responsabilă de sinteza sa. La fel ca A R N-t și A R N-r are o alcătuire

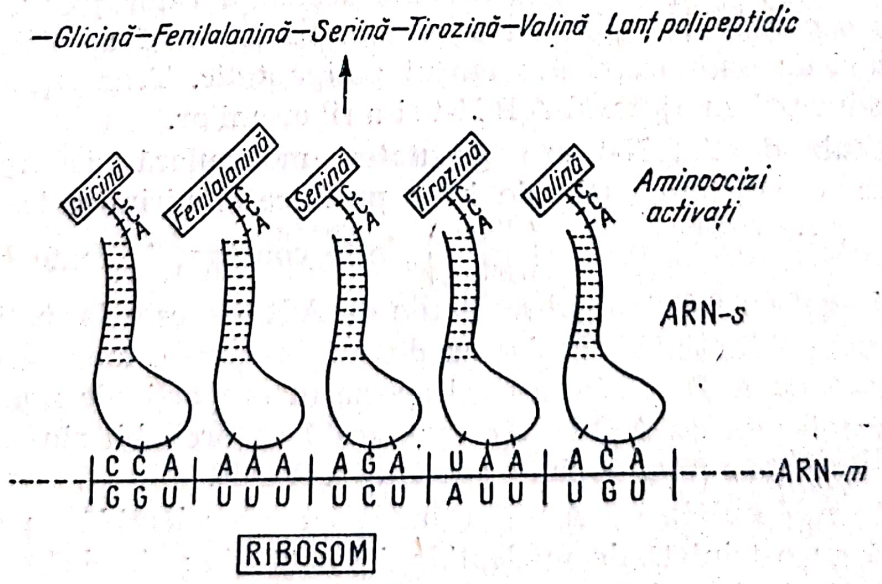



Fig. 176. Reprezentarea schematică a sintezei unui lanț polipeptidic.

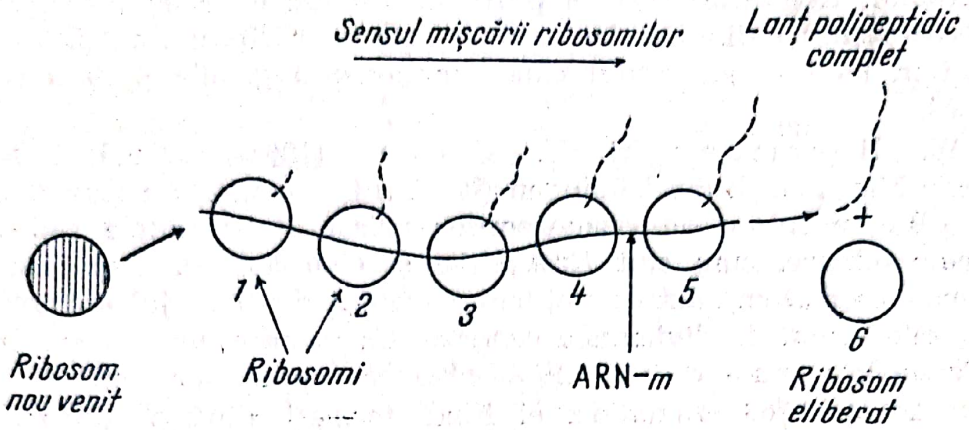



Fig. 177. Un model schematic al funcționării poliribozomului (după Rich și colab., 1963).

similară în cazul a diferite specii, are regiuni cu lanțuri polinucleotidice duble și poate funcționa în procesul biosintezei proteice cu A R N-m provenit de la alte specii.

Primele cercetări au arătat că A R N-m se plasează la suprafața ribozomilor și determină astfel polimerizarea aminoacizilor într-un lanț polipeptidic specific. Cercetările mai noi au arătat însă că ribozomii se mișcă de-a lungul moleculei de A R N-m, determinînd astfel formarea de *poliribozomi* sau *polizomi,* prin care se înțelege prinderea temporară laolaltă a mai multor ribozomi cu ajutorul unei molecule de A R N-m. În general, un polisom are o lungime de circa 1 500 Å, adică aproximativ lungimea unei molecule de A R N-m, și este alcătuit din 5 ribosomi dispuși la distanțe egale de-alungul moleculei de A R N-m. Prin folosirea actinomicinei-D care blochează sinteza A R N-m are loc o reducere treptată a numărului de polisomi. Prin mișcarea lor de-a lungul moleculei de A R N-m într-un anumit sens, ribozomii descifrează codul genetic, determinînd polimerizarea treptată a aminoacizilor în lanțul polipeptidic, pentru ca la sfîrșit să rezulte o moleculă proteică ce este eliberată și ribozomii care redevin independenți. *Ribozomii sînt formațiuni subcelulare nespecifice,* în sensul că ei pot fi folosiți pentru biosinteza a diferite tipuri de proteine a căror specificitate este determinată de A R N-m.

## FUNCȚIONAREA GENELOR CROMOZOMIALE

Fenomenele de transcripție și translație genetică implică ideea că după ce informația genetică din A D N este transferată A R N-m, acesta din urmă migrează din nucleu la locul de sinteză proteică, în special

la ribozomi. Aceste procese au putut fi studiate experimental prin studiul cromozomilor din glandele salivare ale unor diptere, adică s-a putut urmări în mod direct modul cum funcționează genele plasate pe cromozomi.

W. Beermann și U. Clever (1964) de la Institutul de Biologie Max Planck din Tübingen (R. F. a Germaniei) au studiat biosinteza ARN-m în pufele cromozomilor uriași din glandele salivare de la unele diptere, cum sînt *Drosophila* și *Chironomus*. După cum este cunoscut, cromozomii uriași politenici rezultă din clivajul cromozomilor ce nu este urmat de diviziunea celulară. Ca urmare, un cromozom uriaș de *Drosophila* poate conține $2^{12} = 4096$ cromatide, iar unul de *Chironomus* $2^{15} = 32\,768$ cromatide, ei fiind formați dintr-o alternanță de benzi mai întunecate sau mai luminoase. S-a constatat că în benzile întunecate se află o concentrație mare de ADN și histone, proteine specifice asociate cu ADN-ul, în timp ce în benzile luminoase concentrația de ADN și histone este redusă. Pe cromozomii uriași se observă anumite îngroșări caracteristice, denumite *pufe,* ce reprezintă locuri de sinteză intensă a ARN-m. Încă din 1952 W. Beermann a arătat că între pufele cromozomilor uriași și anumite funcțiuni celulare există o strînsă dependență. Mai recent, W. Beermann, U. Clever și C. Pelling din același laborator au reușit să descopere cu ajutorul izotopilor radioactivi că pufele sînt locuri de biosinteză a ARN-m. În acest scop, ei au injectat în larvele de *Chironomus* uridină, un precursor specific al ARN-m, marcată cu tritiu ($H^3$), apoi ei au omorît larvele după un timp variabil, au fixat și studiat citologic prin metoda microradioautografiei cromozomii uriași din glandele salivare. S-a constatat că chiar după 2 minute de la injectarea uridinei marcate, pufele (inelele lui Balbiani) și nucleolii au devenit radioactivi, intensitatea radioactivității depinzînd de mărimea pufelor. Restul materialului cromozomal și citoplasma au rămas reci, chiar după un timp îndelungat de la injecția cu uridină marcată. Studiul ARN biosintetizat în pufe a arătat că el este de tip mesager, fiind o copie negativă a ADN. Prin injectarea în larve a unor inhibitori ai biosintezei ADN ca *actinomicina D* sau *mitomicina* s-a observat că biosinteza ARN este blocată și pufele nu mai sînt radioactive. În sfîrșit s-a mai constatat că în pufe se găsește ARN polimerază, enzima ce catalizează biosinteza ARN.

În mod similar s-a determinat că *pufele sînt locuri de sinteză intensă a ARN-m* cu ajutorul unei metode histochimice. Astfel, prin folosirea albastrului de toluidină ce colorează ADN-ul în albastru și ARN-ul în roșu-violaceu, s-a demonstrat că în timp ce cromozomii uriași erau în totalitate colorați în albastru, numai pufele erau colorate roșu-violaceu datorită prezentei ARN.

## CODUL GENETIC

Cercetările privind corespondenţa dintre succesiunea nucleotidelor în macromolecula acizilor nucleici şi succesiunea aminoacizilor în lanţul polipeptidic au dus la descoperirea codului genetic prin care sînt înregistrate biochimic informaţiile ereditare necesare biosintezei proteice. Ţinînd seama de diversitatea extraordinară a proteinelor unui organism, în molecula de A D N se găseşte înregistrată o cantitate imensă de informaţii. În general prin informaţie (noţiune fundamentată de creatorii ciberneticii N o r b e r t W i n e r şi C l a u d e S h a n o n) se înţelege un mesaj mai mult sau mai puţin cuprinzător despre evenimentele (fenomenele) care au avut loc, au loc sau vor avea loc într-un sistem biologic sau tehnic. În cazul organismelor vii, în A D N se găseşte înscrisă informaţia necesară biosintezei numeroaselor proteine, în special enzime, cu rol important în metabolism. Orice informaţie sau mesaj se transmite printr-un anumit sistem de comunicaţie în care se foloseşte de obicei codificarea. În cazul acizilor nucleici, informaţia este codificată cu ajutorul celor patru tipuri de nucleotide, prin a căror succesiune se formează macromoleculele respective.

În anul 1954 ciberneticianul G. G a m o w a emis primul ipoteza că acizii nucleici conţin codificată informaţia ereditară necesară biosintezei proteinelor. El a studiat problema teoretic şi a constatat că deoarece sînt numai patru tipuri de baze azotate în A D N, respectiv adenina (A), guanina (G), citozina (C) şi timina (T), în timp ce există 20 de aminoacizi mai importanţi ce intră în alcătuirea proteinelor, nu este posibil ca un aminoacid să fie codificat de o singură bază. De asemenea, nu este posibil nici ca o combinaţie de două baze azotate să codifice un anumit

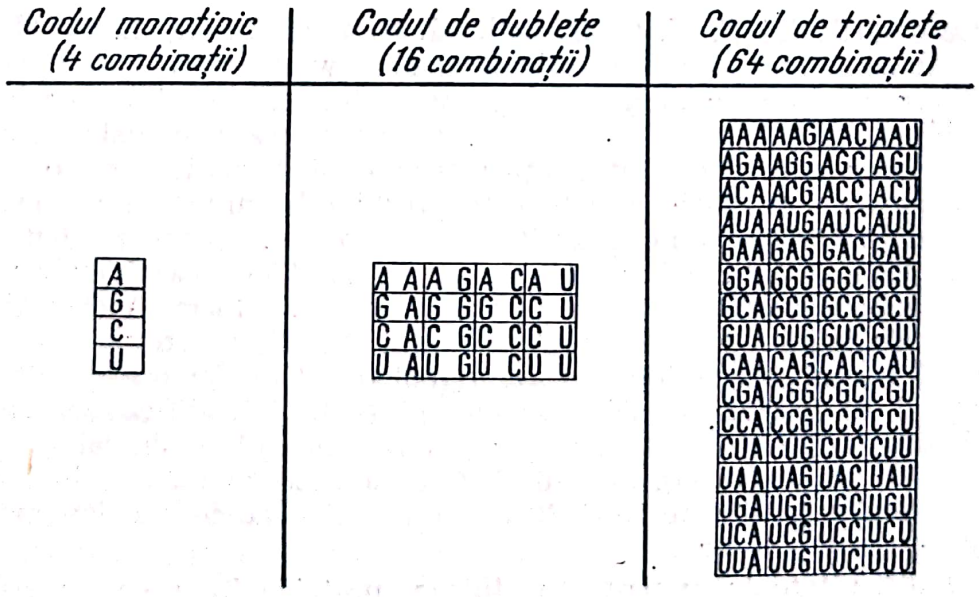



**Fig. 178. Diferite tipuri de coduri imaginate de Gamow.**

aminoacid din cauză că cele patru baze azotate combinate două cîte două dau numai 16 combinații ($4^2$). De aceea el a ajuns la concluzia că există un cod format dintr-o tripletă de baze azotate *(codon)* în acizii nucleici care determină prezența unui anumit aminoacid în molecula proteică. Într-adevăr, cele patru baze azotate combinate trei cîte trei dau naștere la 64 combinații ($4^3$), ceea ce este mai mult decît suficient pentru codificarea celor 20 de aminoacizi. Studiul matematic efectuat de G. Gamow s-a dovedit a fi just și experimental s-a confirmat că codul genetic al fiecărui aminoacid este format dintr-una sau mai multe *triplete de nucleotide sau codoni.* Inițial, G. Gamow a considerat că codul genetic este suprapus (overlapping code), în sensul că 2 triplete succesive au una sau două baze azotate comune. Ulterior s-a dovedit că acest tip de cod nu corespunde realității și a fost înlocuit cu codul format din triplete (codoni) ce nu se suprapun (non overlapping code).

Un alt argument important în sprijinul tezei privind codificarea informației ereditare în ADN o constituie faptul că așa cum s-a arătat deși nu există decît patru tipuri de legături între bazele azotate purinice și pirimidinice, și anume :

— adenină — timină
— timină — adenină
— guanină — citozină
— citozină — guanină

totuși, ținîndu-se seama de mărimea macromoleculei de ADN, există o imensitate de tipuri de succesiune a acestor baze. Astfel, dacă se ține seama că macromolecula de ADN are cel puțin $10^4$ perechi de nucleotide și se consideră că jumătate din legături sînt de tip A-T, iar cealaltă jumătate de tip C-G, numărul combinațiilor de secvențe este uriaș.

Cercetările lui F. H. C. Crick, J. S. Griffith, L. E. Orgel (1957) au confirmat ipoteza lui G. Gamow privind codul genetic format din triplete de nucleotide și au arătat în esență în ce constă acest cod. În sfîrșit, studii ulterioare au reușit să demonstreze că cu ajutorul unor ARN biosintetizați artificial și formați dintr-o succesiune cunoscută de baze azotate este posibilă biosinteza unor proteine formate dintr-o succesiune anumită de aminoacizi. Astfel, pentru prima oară, în 1961, M. W. Nirenberg și J. H. Matthaei au reușit să determine biosinteza artificială a polifenilalaninei, formată exclusiv din molecule de fenilalanină, cu ajutorul unui ARN sintetizat artificial și conținînd numai nucleotide de uracil (poli-U). S-a demonstrat deci experimental că tripleta uracil-uracil-uracil (UUU) codifică aminoacidul fenilalanina. Ulterior aceste cercetări au fost dezvoltate în laboratoarele lui M. W. Nirenberg, ale lui S. Ochoa etc. și au dus la identificarea codonilor pentru toți cei 20 de aminoacizi, adică s-a descoperit în întregime codul genetic.

O dificultate importantă în sinteza proteică în care se folosesc ARN-m artificiali o constituie *structurile secundare.* După cum se știe,

Scanned with OKEN Scanner

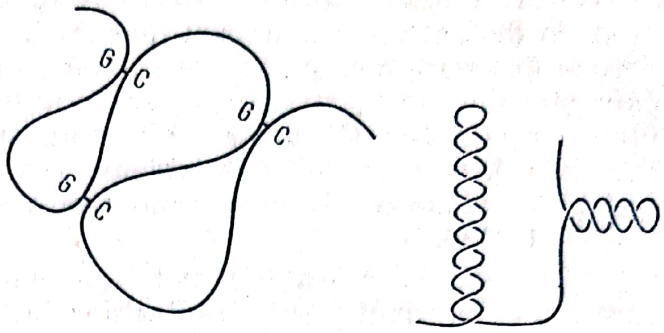



Fig. 179. Structuri secundare ale A R N-m artificial (după *Fouchet* și *Ostoya*, 1966).

*M. W. Nirenberg* folosise în primele sale experiențe un A R N-m artificial, format numai dintr-o succesiune de uracil (poli-U) care nu formează structuri secundare și cu ajutorul căruia reușise sinteza polifenilalaninei în mod foarte eficient. În cazul însă cînd se utilizează A R N-m artificiali ce conțin două tipuri de baze, de pildă poli-AU, apar structuri secundare datorită afinității chimice dintre adenină și uracil. Același fenomen se întîmplă și în cazul lui poli-G C. În ambele cazuri, A R N-m nu mai este constituit dintr-un singur filament, ci formează structuri duble sau triple. Ținînd seama de acest fapt, M. W. N i r e n b e r g a reușit ulterior să determine codonii necesari încorporării diferiților aminoacizi în lanțul polipeptidic. De pildă, poli-A G determină încorporarea lizinei, iar poli-C G determină încorporarea alaninei, argininei și prolinei în lanțul polipeptidic. Acești poli-A G și poli-C G sînt activi însă numai în cazul cînd guanina nu depășește 45%, probabil din cauza structurilor secundare care se formează. În mod similar s-a reușit ulterior ca folosindu-se un poli-A C G (A-46%, C-32% și G-22%) să se realizeze încorporarea alaninei, argininei, acidului aspartic, acidului glutamic și lizinei.

Pe baza acestor rezultate s-au continuat cercetările în laboratoarele lui M. W. Ni r e n b e r g de la Bethesda și ale lui H. G. K h o r a n a de la Universitatea din Wisconsin, în vederea determinării nu numai a celor trei baze care intră în alcătuirea unui codon, dar și a secvenței acestor baze în codonul respectiv.

Plecînd de la faptul că poli-U G (U-74% și G-26%) determină includerea în lanțul polipeptidic a valinei, s-a tratat acest A R N-m artificial (poli-U G) cu ribonuclează, prin care lanțul polinucleotidic a fost scindat. Printre fragmentele respective existau tripleți care au fost separați prin centrifugare fracționată și apoi prin electroforeză. Cercetări anterioare demonstraseră că valina este codificată de codonul 2 U 1 G, însă nu se cunoștea ordinea acestor baze. Ca urmare, după ce au fost separați tripleții respectivi, s-a trecut la identificarea celor patru tipuri de codoni : U U U, G G G, G G U și U U G. Dintre aceștia, numai ultimul (U U G) prezintă interes și ca urmare s-a procedat la separarea lui prin electroforeză combinată cu cromatografie pe hîrtie în sistem bidimensional, în care produsele de analizat se amestecă cu un solvent special, astfel că ele migrează pe hîrtie cu viteze diferite. Dacă se adaugă

un curent electric, atunci diferitele triplete sînt antrenate în unghi drept la distanțe mai mari sau mai mici, în funcție de sarcinile lor electrice și formează pete pe hîrtia cromatografică. Aceste pete sînt apoi decupate și cu ajutorul spectroscopiei în ultraviolet pot fi identificate tripletele respective. Ca urmare s-a reușit separarea tripletelor 2 U 1 G. Rămînea însă de rezolvat problema cea mai dificilă a secvenței celor trei baze, deoarece ele pot forma teoretic trei secvențe diferite : G U U, U G U, U U G.

În acest scop s-a efectuat așa-numita *analiză de vecinătate* prin care s-a determinat poziția radicalilor fosforici. De pildă, tripletul U G U se prezintă sub forma *p* U p G *p* U *p* în care p este radicalul fosforic prin care se realizează legătura dintre bazele azotate. Cu ajutorul enzimei, fosfataza s-au detașat mai întîi radicalii fosforici (p) terminali care sînt mai ușor de eliminat, astfel că tripletul a devenit U *p* G *p* U. În mod similar s-a procedat și cu celelalte două triplete G U U și U U G. Apoi, cu ajutorul ribonucleazei extrase din ficat de porc s-au produs noi sciziuni în cadrul tripletelor. Datorită însă ordinii diferite a bazelor în tripletă, prin acțiunea ribonucleazei apar produși caracteristici :

$$U_p\ G_p\ U \longrightarrow U_p + G_p\ U$$
$$G_p\ U_p\ U \longrightarrow G_p\ U_p + U$$
$$U_p\ U_p\ G \longrightarrow U_p\ U_p + G$$

Pentru a verifica aceste rezultate, s-a acționat asupra tripletelor cu un alt tip de ribonuclează care produce, de asemenea, sciziuni caracteristice. S-a reușit în felul acesta să se separe pe hîrtie cromatografică cei trei codoni diferiți : U U G, U G U, G U U. Într-o etapă preliminară a sintezei lanțului polipeptidic, aminoacizii purtați de A R N-t nu sînt fixați de ribozomi decît în prezența codonului respectiv. Pentru a descifra codul, se folosește *metoda identificării aminoacizilor fixați de ribozomi sub influența unui codon cunoscut*, fără ca aceasta să ducă la sinteza lanțului polipeptidic. Se utilizează apoi membrane filtrante care lasă să treacă aminoacizii liberi și reține ribozomii de care sînt fixați aminoacizii. Dacă un anumit aminoacid a fost fixat în prealabil de ribozom, este astfel posibil a afla codonul care îl codifică. Prin această metodă s-a descoperit, de pildă, că valina este codificată de G U U, în timp ce U G U codifică cisteina, iar U U U codifică leucina.

O altă cale utilizată pentru descoperirea ordinii nucleotidelor din codoni este *folosirea de acizi ribonucleici mesageri (A R N-m) artificiali* a căror secvență a nucleotidelor este cunoscută pentru sinteza de polipeptide. Dacă în cazul primelor experiențe s-au folosit numai A R N-m formați dintr-un singur tip de nucleotide, de exemplu poli-U, ulterior s-a trecut la sinteza artificială de A R N-m formați din două sau chiar trei tipuri de nucleotide, care alternează în mod regulat. Pe această cale s-a putut determina ordinea nucleotidelor în anumiți codoni.

În sfîrșit, o altă cale folosită pentru depistarea ordinii nucleotidelor din codoni o constituie *studiul mutațiilor de substituire* a unor aminoa-

cizi din molecula unor proteine mai bine cunoscute, cum sînt hemoglobina, triptofan-sintetaza colibacilului sau proteina virusului mozaicului tutunului. De pildă, o mutație de substituire foarte frecventă constă în înlocuirea valinei cu izoleucina. Dar valina, după cum se știe, este codificată de tripleta G U U. Ținînd seama că mutațiile de acest tip care se produc la nivelul lanțului polinucleotidic afectează deobicei numai o singură nucleotidă, s-a ajuns la concluzia că izoleucina, care se știe că este codificată de 1 A 2 U, are drept secvență a nucleotidelor A U U. Aceasta datorită schimbării codonului valinei G U U în A U U. În mod similar s-a descoperit secvența nucleotidelor și pentru codonii altor aminoacizi.

Ca urmare, codul genetic este în prezent aproape complet descifrat. În tabelul de mai jos sînt prezentate cele trei nucleotide care intră în alcătuirea unui codon într-o anumită ordine.

**CODUL GENETIC**

(după *J. Fouchet* și *P. Ostoya*, 1966)

| Prima nucleotidă a codonului | A doua nucleotidă a codonului | | | | A treia nucleotidă a codonului |
|---|---|---|---|---|---|
| | U | C | A | G | |
| U | Fen | Ser | Tir | Cis | U |
| | Fen | Ser | Tir | Cis | C |
| | Leu | Ser | Stop * | Tri | A |
| | Leu | Ser | Stop ** | Tri | G |
| C | Leu | Pro | His | Arg | U |
| | Leu | Pro | His | Arg | C |
| | Leu | Pro | Ac. Glu | Arg | A |
| | Leu | Pro | Ac. Glu | Arg | G |
| A | Ileu | Tre | Ac. Asp | Ser | U |
| | Ileu | Tre | Ac. Asp | Ser | C |
| | Ileu (?) | Tre | Lis | Arg | A |
| | Met | Tre | Lis | Arg | G |
| G | Val | Ala | Asp | Gli | U |
| | Val | Ala | Asp | Gli | C |
| | Val | Ala | Glu | Gli | A |
| | Val | Ala | Glu | Gli | G |

*) Acest codon se mai cheamă și „ocru"
**) Acest codon se mai cheamă și „ambră"

Scanned with OKEN Scanner

Adevăratul cod conținut de macromolecula de A D N se obține foarte simplu prin înlocuirea nucleotidelor din A R N-m cu complementul lor : citozina (C) prin guanină (G), guanina (G) prin citozină (C), adenina (A) prin timină (T) și uracilul (U) prin adenină (A).

Codul așa cum se prezintă la ora actuală este un *cod degenerat* în sensul că numeroase triplete sînt sinonime, codificînd același aminoacid. De pildă, arginina este codificată de C G U, C G C, C G A, C G G, A G U și A G G. Se pare însă că degenerarea este relativă, deoarece codonii nu sînt la fel de eficienți în procesul de biosinteză proteică. Astfel, codonul C G A are o capacitate redusă de a determina includerea argininei în lanțul polipeptidic, iar codonul C G G este aproape inactiv din cauza probabil a unei proporții prea mari de guanină, ce determină structuri secundare.

În ceea ce privește importanța nucleotidelor din codon s-a constatat că primele două sînt cele mai semnificative, în timp ce a treia poate fi relativ ușor înlocuită. Dacă este o bază purinică, poate fi înlocuită cu altă bază purinică (adenina cu guanina și invers), dacă este o bază pirimidinică, poate fi înlocuită cu altă bază pirimidinică (citozina cu uracilul și invers) sau, în sfîrșit, este posibilă chiar înlocuirea ultimei nucleotide cu oricare alta din cele patru. O excepție de la această regulă o constituie leucina la care codonii încep cu U sau C și arginina la care încep cu C sau A.

Codonii U A A și U A G servesc pentru a marca sfîrșitul unei gene și de aceea ei se cheamă „stop". De asemenea, trebuie menționat că tripletul U A A este mult mai frecvent ca U A G.

Metionina este codificată de tripletul A U G, care se plasează la începutul lanțului polinucleotidic. Aceasta înseamnă că lanțul polipeptidic trebuie să înceapă cu aminoacidul metionină, fapt demonstrat experimental în multe cazuri. Unii cercetători consideră că absența metioninei din capul lanțului polipeptidic în cazul unor proteine este numai un „accident" de extracție și că în realitate metionina există în acest loc.

O problemă de mare importanță este următoarea : codul genetic are un caracter universal, adică este valabil pentru toate organismele vii, sau are un caracter particular, variind de la specie la specie ?

Cercetările din ultimii ani au pus în evidență universalitatea codului genetic. Acest fapt a fost dovedit în primul rînd prin studiul proteinelor biosintetizate în sisteme acelulare, provenite de la bacterii și de la mamifere, de pildă, sub influența unor A R N sintetizați artificiali. S-a constatat că indiferent de originea sistemului acelular liber, se obțin aceleași proteine, fapt care constituie un argument important că aminoacizii ce intră în alcătuirea proteinelor respective sînt codificați de aceleași triplete.

În 1961 S. O c h o a, P. L e n g y e l și J. F. S p e y e r au reușit să obțină sinteza polifenilalaninei cu ajutorul unui A R N sintetic poli-U atît într-un sistem acelular de *Escherichia coli* cît și într-un sistem asemănător de ficat de șobolan, la care s-a adăugat A R N-t de

*Escherichia coli*. Tot în 1961 M. W. Nirenberg și J. H. Matthaei au biosintetizat artificial proteine de la virusul mozaicului tutunului prin introducerea A R N de la acest virus într-un sistem acelular de *Escherichia coli*. În sfînșit, G. Ehrenstein și F. Lipmann (1961) au biosintetizat artificial hemoglobina de iepure, pornind de la ribozomi și A R N-m de reticulocite de iepure și A R N-t de *E. coli*.

Cercetările efectuate în diferite laboratoare au pus astfel în evidență că aminoacizii ce intră în alcătuirea proteinelor sînt codificați de aceleași triplete, indiferent de organismul în care se realizează biosinteza proteică. De asemenea, s-a dovedit că mesajul genetic conținut în acizii nucleici al unei specii este capabil în condiții corespunzătoare să determine sinteza proteinelor într-un sistem acelular de la o altă specie. Aceste fapte arată deci concludent că *codul genetic are un caracter universal*, indiferent de gradul de evoluție al speciei respective.

În sfîrșit o ultimă chestiune importantă este cea privind modul cum se descifrează mesajul genetic conținut într-o succesiune de baze azotate. Unele cercetări arată că *citirea mesajului genetic se face numai într-un singur sens*, astfel că absența unei singure baze azotate (deleție) sau adăugarea unei baze (duplicație) face ca întreg mesajul genetic să fie citit eronat, după cum se observă mai jos :

Normal : *A B C A B C A B C A B C A B C* etc.
Deleție : *A B C A B C A⁻B C A B C A B C A* etc.
Duplicație : *A B C A B C A⁺A B C A B C A B* etc.

În cazul cînd fenomenul de deleție și duplicație se manifestă simultan, citirea mesajului genetic redevine corectă :

*A B C A B C A⁻ B C A B C A B C A⁺B C A B C A B C* etc.

Cercetările lui F. Crick, L. Barnett, S. Brenner și R. Watts-Tobin (1961) au arătat că mutantele de tip r induse cu ajutorul proflavinei la bacteriofagul T 4, își datoresc caracteristicile tocmai faptului că în A D N-ul lor s-a modificat codul genetic prin deleția sau adiția unei baze azotate. Prin recombinarea genetică a unor mutante de tip r care provin una prin deleția și alta prin adiția unei baze azotate, reapare tipul sălbatic inițial al bacteriofagului.

În ceea ce privește cantitatea de informație genetică conținută în macromolecula de A D N se consideră că la organismele evoluate, de pildă la mamifere, există mult mai mult A D N decît ar fi necesar pentru codificarea sintezei celor cîteva mii de polipeptide specifice. Astfel, dacă în medie sînt necesare 1500 de perechi de nucleotide pentru codificarea unei polipeptide, bacteriofagii conțin un număr suficient de nucleotide pentru a codifica 300 de polipeptide. Bacteriile au o cantitate mai mare de A D N suficient pentru codificarea a 16 000 polipeptide, iar mamiferele au și mai mult A D N cu care ar putea codifica circa 8 mi-

lioane polipeptide. Ţinînd seama de excesul cantitativ al A D N în nucleul celulelor organismelor superioare, se consideră că o mică parte, mai puţin de 1%, serveşte pentru sinteza A R N-t şi A R N-r, altă parte pentru codificarea genelor structurale şi, în sfîrşit, cea mai importantă parte este necesară pentru asigurarea reglajului genetic al biosintezei proteinelor.

## REGLAJUL GENETIC

F. Jacob şi J. Monod pornind de la numeroase date experimentale privind sinteza celulară a unor proteine, mai ales enzime, au elaborat *teoria reglajului genetic* într-o lucrare publicată în 1961 şi devenită deja clasică : *Mecanismul reglajului genetic în sinteza proteinelor*, apărută în Journal of Molecular Biology. În această lucrare, ei demonstrează că sinteza unei proteine sau a unei enzime în celulă nu este constantă în timp, ci este sub controlul unui mecanism reglator genetic şi a numeroşi factori interni şi externi. Primele cercetări privind biosinteza celulară a proteinelor au dus la descoperirea fenomenelor de inducţie şi represie enzimatică, fenomene de acelaşi ordin, însă opuse ca acţiune şi care controlează cantitatea de enzime sintetizată.

### Inducţia enzimatică

*Inducţia enzimatică este fenomenul prin care celulele au capacitatea să producă enzimele necesare metabolizării unor substanţe ce nu sînt de obicei prezente în mediu.* Fenomenul de inducţie enzimatică este reglat genetic, el constituind o adevărată *adaptare enzimatică* a organismelor, fapt ce le dă posibilitatea să utilizeze un mediu variat. Inducţia enzimatică este declanşată de prezenţa în mediu a inductorului, substanţă ce trebuie metabolizată.

Un exemplu interesant de inducţie enzimatică a fost descoperit de F. Dienert la drojdia de bere *(Saccharomyces cerevisiae)*, care este capabilă să fermenteze lactoza din lapte cu ajutorul enzimei lactaza. Tulpinile de drojdie de bere care au fost crescute mai multe generaţii pe un mediu conţinînd lactoză au o cantitate mare de lactază, astfel că ele încep fermentaţia în aproximativ o oră de la incubaţie. În cazul însă al tulpinilor ce nu au fost crescute pe mediu cu lactoză, fermentaţia nu are loc din cauză că acestor tulpini le lipseşte lactaza. Totuşi în mediu cu lactoză fermentaţia începe să se desfăşoare după aproximativ 14 ore de la incubaţie, fapt care arată că prezenţa lactozei induce producerea lactazei de către celulele drojdiei.

Scanned with OKEN Scanner

## Represia şi retroinhibiţia enzimatică

*Represia enzimatică este un fenomen opus inducţiei, prin care este inhibată sinteza aminoacizilor, nucleotidelor etc. datorită unui represor ce acţionează asupra sintezei.* Fenomenul mai este cunoscut sub denumirea de *adaptare enzimatică negativă.* Ca şi inducţia, represia se caracterizează prin *specificitate,* în sensul că sinteza unei enzime este controlată de un anumit inductor sau represor.

Inducţia şi represia enzimatică sînt fenomene diferite de *sistemul enzimatic constitutiv* care este capabil să producă permanent enzime indiferent de prezenţa sau absenţa substratului şi este determinat de *gene constitutive.*

Inducţia şi represia enzimatică sînt două aspecte ale aceluiaşi fenomen, primul avînd rolul de antagonist al unui represor intern ce se opune sintezei enzimei, iar al doilea fiind un antagonist al inductorului intern.

*Retroinhibiţia enzimatică, inhibiţia prin feedback sau efectul Novick-Szilard, este un alt sistem de control al sintezei proteice prin cantitatea de produs final.* În cazul unui anumit lanţ metabolic, produsul final în cantitate mare inhibă enzima ce controlează prima etapă a lanţului metabolic. *În timp ce în cazul represiei enzimatice este inhibată sinteza enzimei, în cazul retroinhibiţiei este inhibată însăşi enzima, care nu mai poate astfel funcţiona.*

O altă deosebire importantă între represia enzimatică şi retroinhibiţia enzimatică constă în aceea că în primul caz inhibitorul este izos-

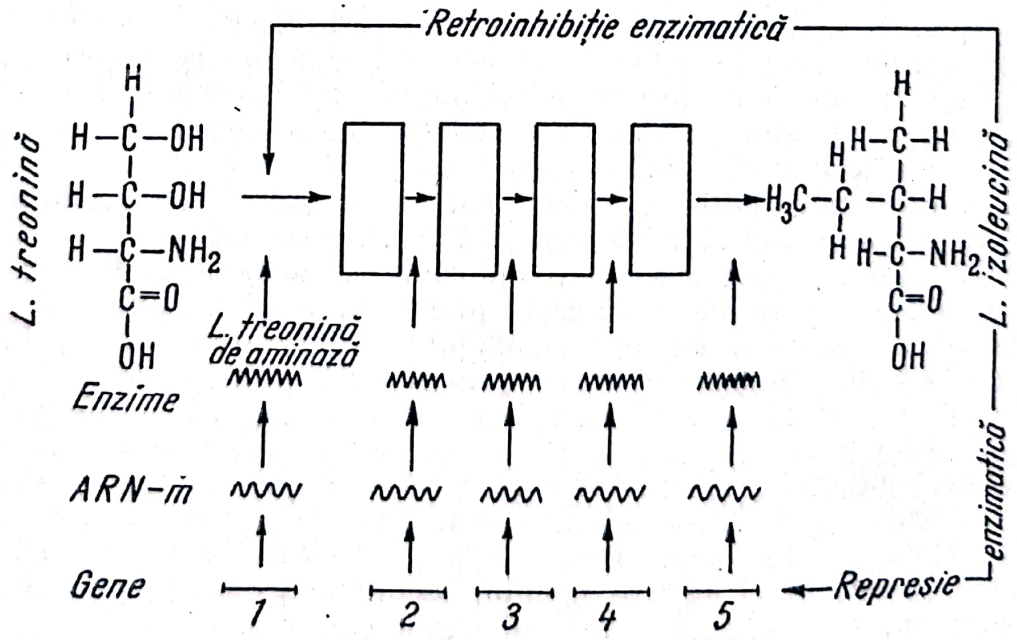



Fig. 180. Reprezentarea schematică a celor 2 mecanisme de inhibiţie enzimatică ce controlează cantitatea de L-izoleucină produsă de bacteria *E. coli.*

teric, și în al doilea este alosteric. Ce înseamnă aceasta ? Represia enzimatică se realizează cu ajutorul unui represor, care din punct de vedere structural este foarte înrudit cu substratul enzimei (efect izosteric), în timp ce retroinhibiția enzimatică se realizează printr-un inhibitor specific, însă foarte diferit de substratul enzimei (efect alosteric).

Cercetări efectuate la *Escherichia coli* au pus în evidență experimental deosebirea dintre cele două tipuri de inhibiție enzimatică. Astfel în prezența în exces a inhibitorului arginină, această bacterie sintetizează numai cantități extrem de reduse ale enzimei ornitină-carbamil-transferază cu rol în lanțul metabolic ce duce la sinteza argininei, însă prin eliminarea argininei din mediul de cultură sinteza enzimei sporește de aproximativ 1 000 de ori. Se consideră că represorul este în acest caz o enzimă înrudită produsă de o genă reglatoare, care reacționînd cu substratul enzimei ornitină-carbamil-transferază determină blocajul sintezei acesteia. Este deci vorba de un *represor izosteric.*

În ceea ce privește retroinhibiția enzimatică, A. Novick și L. Szilard (1954) au remarcat că adăugarea de triptofan în mediul de cultură al *E. coli* are ca efect blocarea imediată a sintezei triptofanului. În acest caz se consideră că inhibitorul alosteric acționează prin intermediul unei enzime alosterice direct asupra enzimei respective, căreia îi provoacă modificări structurale ce duc la blocarea activității ei. Tot la *E. coli* s-a demonstrat experimental că metaboliții alosterici pot avea nu numai efect inhibitor, ci și stimulator. Astfel, izoleucina este un inhibitor al enzimei treonină-deaminază, iar valina este un stimulator al acestei enzime. La animale se consideră că hormonii sînt metaboliți alosterici, care reglează activitatea enzimatică.

Un alt exemplu care ilustrează *deosebirea dintre represia enzimatică și retroinhibiția enzimatică* a fost studiat tot la *E. coli,* bacterie la care prezența în mediu în exces a aminoacidului L — izoleucină are un efect dublu asupra celulelor :

1) blochează activitatea enzimei L-treonină-deaminază, prima dintre cele 5 enzime care transformă L-treonina în L-izoleucină ;

2) frînează producerea de către celule a tuturor enzimelor (inclusiv L-treonină-deaminază) necesare pentru sinteza L-izoleucinei.

Primul mecanism controlează cantitatea de L-izoleucină prin retroinhibiție enzimatică, iar al doilea prin represie enzimatică, cele 2 mecanisme fiind însă independente. Acest fapt a fost pus în evidență prin descoperirea a 2 mutante de *E. coli :* una care privează celula de capacitatea de inhibare a enzimei L-treonină-deaminază de către L-izoleucină și alta care privează celula de posibilitatea de frînare a producției tuturor enzimelor din acest lanț metabolic de către L-izoleucină. S-a constatat că cele două mutații sînt plasate în loci diferiți, pe cromozomul bacterian, fapt care arată că ele sînt independente.

Inducția și represia enzimatică sînt fenomene opuse, însă strîns legate unul de altul. Astfel, într-un *sistem inductibil* legătura semnal dintre inductor-represor inactivează represorul și determină sinteza

enzimei, iar într-un *sistem represibil* legătura semnal dintre inductor-represor activează represorul și blochează deci sinteza enzimei.

*Sistemul de control al activității enzimatice celulare acționează nu numai negativ prin inhibiție, ci și pozitiv prin stimularea unor enzime.* Un exemplu concludent de control dublu îl constituie lanțul metabolic care realizează înmagazinarea energiei sub formă de glicogen și folosirea acestei rezerve de către celula animală. După cum se știe, sinteza glicogenului se realizează cu ajutorul a trei enzime diferite în felul următor : glucoza — 6 — fosfat este transformată de o primă enzimă ($E_1$) în glucoză — 1 — fosfat, glucoza — 1 — fosfat este transformată apoi de o a doua enzimă ($E_2$) în uridin — difosfat D — glucoză, iar aceasta este transformată de o terță enzimă ($E_3$) în glicogen. Cînd celula are condiții favorabile, ea produce o cantitate mare de glucoză — 6 — fosfat care servește ca semnal pentru enzima a treia ce transformă uridin-difosfat D — glucoza în glicogen ce se acumulează în celulă. În condiții mai puțin favorabile, cînd celula are nevoie de energie, este necesară hidroliza glicogenului cu ajutorul enzimei glicogen-fosforilază ($E_4$) și punerea în libertate a energiei. Ca semnal pentru acest proces servește adenosin-monofosfatul (A M P) care stimulează enzima glicogen-fosforilaza ce hidrolizează glicogenul, iar energia realizată servește la transformarea A M P în molecule de adenosin-trifosfat (A T P) ce înmagazinează energie.

În sfîrșit trebuie semnalat faptul că *unii produși celulari sînt controlați enzimatic nu numai de produșii finali ai liniei metabolice respective, dar și de produșii finali ai unei alte linii metabolice.* De pildă, bazele purinice și pirimidinice ce intră în alcătuirea acizilor nucleici sînt sintetizate în linii metabolice paralele și producția lor este controlată enzimatic reciproc. Aceasta deoarece ele trebuie produse într-o anumită proporție, necesară biosintezei acizilor nucleici. S-a demonstrat experimental că producția bazelor pirimidinice este controlată enzimatic can-

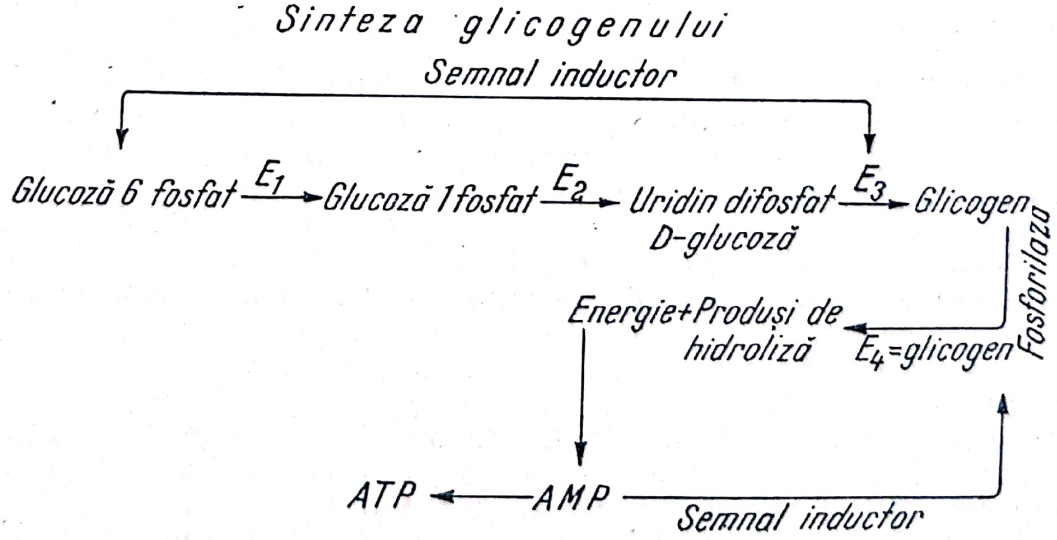



Fig. 181. Schema sintezei și hidrolizei glicogenului.

titativ nu numai de produşii finali (pirimidinele) ai lanţului metabolic respectiv, ci şi de produşii finali (purinele) ai lanţului metabolic paralel, ce acţionează asupra primei enzime din secvenţa metabolică. Numai că în timp ce pirimidinele în exces inhibă prima enzimă din secvenţa metabolică respectivă, purinele în exces stimulează activitatea aceleiaşi enzime. Ca urmare se realizează un echilibru între fenomenele de inducţie — represie, ce are ca rezultat sinteza economică a bazelor purinice şi pirimidinice, exact în cantităţile necesare biosintezei acizilor nucleici.

## GENE STRUCTURALE ŞI GENE REGLATOARE

Cercetările efectuate de geneticienii francezi J. Monod, F. Jacob şi colaboratorii (1951, 1955, 1959) la Institutul Pasteur din Paris privind sinteza lactozei la *E. coli* au dus la descoperirea celor două tipuri de gene : structurale şi reglatoare. Studiind lanţul metabolic care duce la sinteza lactozei, ei au identificat trei tipuri de mutante :

1) mutante recesive $z^-$, care nu au enzima β — galactasidază şi ca atare nu pot hidroliza lactoza în glucoză şi galactoză ;

2) mutante recesive $y^-$, care nu au enzima β — galactosid permează şi de aceea nu pot folosi lactoza din mediu ;

3) mutante recesive $i^-$, care au capacitatea de a sintetiza ambele enzime, indiferent de prezenţa sau absenţa inductorului, fiind deci mutaţii constitutive ce afectează sistemul enzimatic constitutiv.

Tipul sălbatic este în cazul celor trei mutante : $z^+y^+i^+$. Genele $z$ şi $y$ afectează fiecare o enzimă corespunzînd concepţiei clasice o genă — o enzimă şi sînt funcţional independente una de alta. În dispoziţia *trans* $z^-y^+/z^+y^-$, organismul diploid respectiv prezintă fenotipul sălbatic, ceea ce arată că mutaţiile $z^-$ şi $y^-$ sînt complementare, însă funcţional independente. Ele sînt deci *gene structurale* în înţelesul clasic al noţiunii de genă.

Mutaţiile $i^-$ sînt diferite de cele precedente, ele afectînd ambele enzime în sensul că mutantele pot sintetiza cele două enzime în absenţa inductorului. Astfel, ele nu se supun legii : o genă — o enzină. Aceste mutaţii afectează deci alt tip de gene care au un rol de a regla sinteza mai multor enzime şi de aceea au fost denumite *gene reglatoare*.

Prin testul *cis-trans* s-a constatat că gena $i$ este independentă de genele $z$ şi $y$, iar prin teste de recombinare genetică s-a dovedit că ea este plasată pe cromozomul bacterian în locusul lactoză. Pe această bază s-a ajuns la concluzia că gena $i$ determină sinteza unei enzime represoare : la organismele normale ($i^+$), represorul se opune sintezei enzimelor de către genele structurale, iar la mutanta ($i^-$) represorul este absent. În cazul organismelor normale ($i^+$) poate interveni un inductor care se opune represiei şi ca urmare sinteza enzimatică are loc.

În ceea ce priveşte modul de acţiune al genei reglatoare se consideră că ea produce o proteină represoare (o enzimă alosterică) $R$ care se

opune sintezei enzimelor de către genele structurale. În prezenţa unui inductor *I*, represorul *R* reacţionează cu acesta dînd naştere represorului modificat *R'* care nu mai blochează sinteza enzimatică. Invers, în cazul represiei enzimatice, represorul *R* produs de gene reglatoare reacţionează cu metabolitul co-represor (efector *F*) şi dă un represor nemodificat *R* care este activ, adică reprimă sinteza enzimelor de către genele structurale.

În concluzie se poate remarca faptul că *genele reglatoare* acţionează asupra mai multor gene structurale legate funcţional, în exemplul de mai sus gena reglatoare *i* acţionează asupra genelor structurale *z* şi *y* ce fac parte din sistemul lactoză. Genele reglatoare produc proteine represoare *R* care reprimă sinteza enzimelor de către genele structurale. De aceea, genele reglatoare au un mod de funcţionare *negativ*, în sensul că realizează reglajul sintezei enzimelor prin intermediul unui represor care se opune transferului de informaţie genetică de la genele structurale la locul de sinteză a enzimelor.

## Operator şi operon

F. Jacob şi J. Monod (1961), studiind reglajul genetic al sintezei proteice, au descoperit *operatorul*, care are rolul de a se combina cu represorul şi în felul acesta blochează transferul de informaţie genetică de la genele structurale spre locul de sinteză a proteinelor. Deci operatorul poate fi considerat un *receptor al represorului*. Operatorul este ori un segment cromozomic ataşat genelor structurale (operator genetic), sau un segment de A R N-m care se ataşează A R N-m care asigură transferul de informaţie genetică al genelor structurale (operator citoplasmatic).

În ce priveşte funcţia operatorului, el are rolul de a recepţiona semnalele emise de genele reglatoare, respectiv proteinele sintetizate în acest scop şi de a le transforma în realitate prin acţionarea asupra genelor structurale. În cazul represiei enzimatice, represorul produs de gena reglatoare reacţionează cu co-represorul şi dă un represor modificat ce are o afinitate mărită pentru operator cu care astfel reacţionează, rezultatul fiind activarea operatorului. Inducţia enzimatică se realizează în mod similar, inductorul reacţionînd cu represorul şi formînd un represor modificat cu afinitate redusă pentru operator. Acesta din urmă neprimind astfel „semnale" nu este activat şi nu reacţionează.

*Operonul* este ansamblul format de genele structurale plus operatorul, care formează împreună un segment cromozomic şi acţionează funcţional coordonat. F. Jacob şi J. Monod (1961) au descoperit că această structură a operonului determină ca el să aibă *polaritate*, adică să fie „citit" de A R N-m de la un cap la altul al moleculei de A D N într-un anumit sens. În special cercetările privind operonul histidină au contribuit la această descoperire.

Scanned with OKEN Scanner

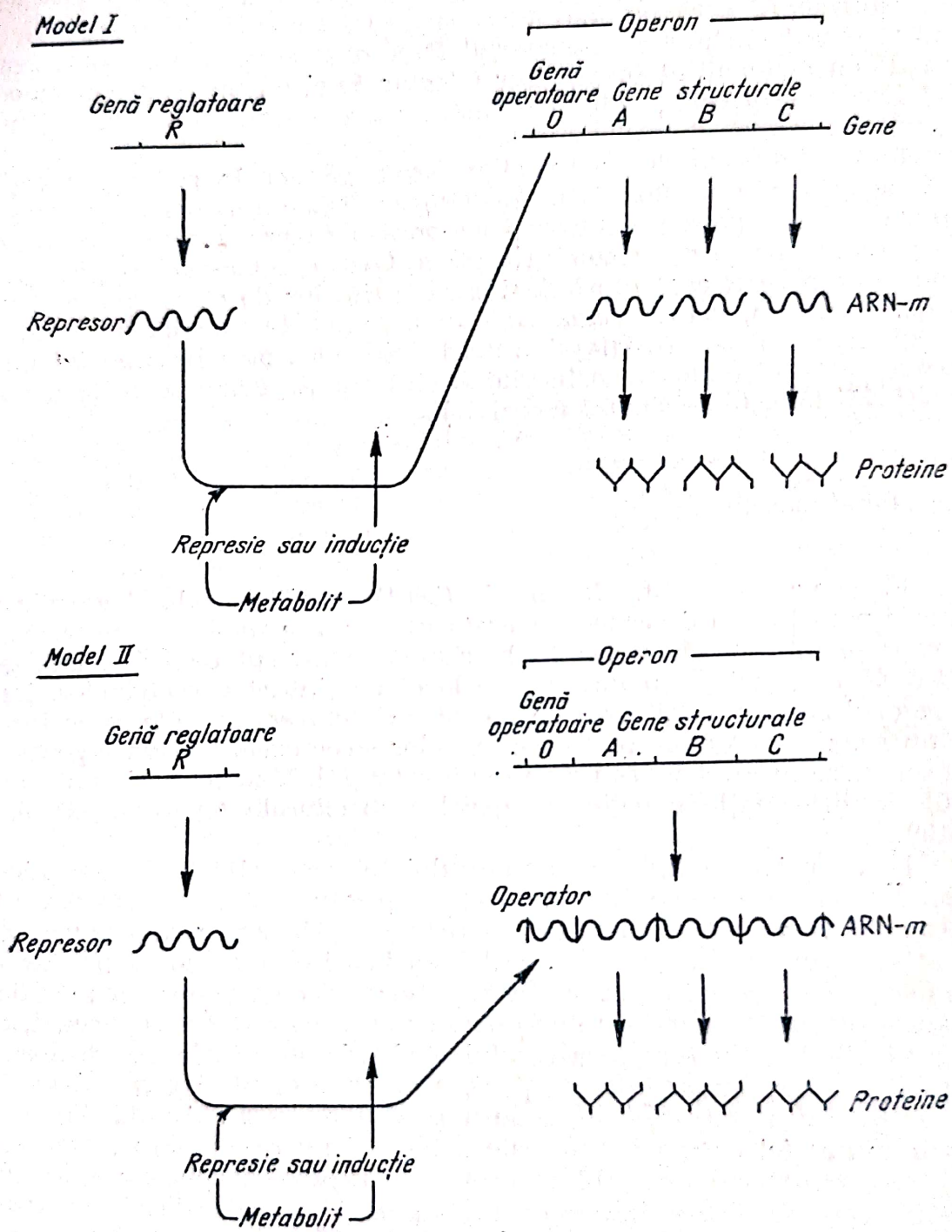



Fig. 182. Schema celor 2 modele ale reglajului genetic (după Grouchy, 1965)

Scanned with OKEN Scanner

La *Salmonella typhimurium* s-au identificat o serie de peste 1 000 mutante auxotrofe care au fost grupate în 8 cistroni notați cu literele mari ale alfabetului de la A la H și care afectează lanțul metabolic ce pornește de la fosforibozil pirofosfat și prin ajutorul a 8 enzime ce acționează succesiv îl transformă în aminoacidul histidină. Cele 8 enzime ce afectează acest lanț metabolic catalizează fiecare o anumită etapă a procesului, cu excepția enzimei produse de gena structurală *B* care catalizează două etape diferite. Extrema dreaptă a acestui operon este reprezentată de gena *G*, care este operatorul. În cazul că o mutație afectează una din genele structurale respective, fapt care determină blocajul enzimatic corespunzător, toate genele situate la dreapta mutantei au o producție enzimatică normală și toate cele situate la stînga au o producție mai redusă. De aici s-a dedus că „citirea" operonului se face de la dreapta la stînga, începîndu-se deci cu operatorul.

Fenomenul polarității operonului poate fi explicat și prin întreruperea citirii, în felul următor : informația ereditară a operonului histidină ce cuprinde mai mulți cistroni este transferată unei molecule de A R N-m, care este „citită" de către ribozomi de la dreapta la stînga și în felul acesta informația se transformă în realitate, adică în proteină. Desigur că în cursul „citirii" se poate întîmpla o întrerupere a transferului de informație genetică către proteină. Cu cît un cistron este mai apropiat de operator cu atît el are mai multe șanse de a fi „citit" și invers. Această polaritate este rezultatul unui proces de selecție care a avut ca rezultat o probabilitate mărită pentru ca primele enzime din lanțul metabolic al histidinei să fie „citite" primele și în felul acesta să nu aibă loc blocajul întregului lanț.

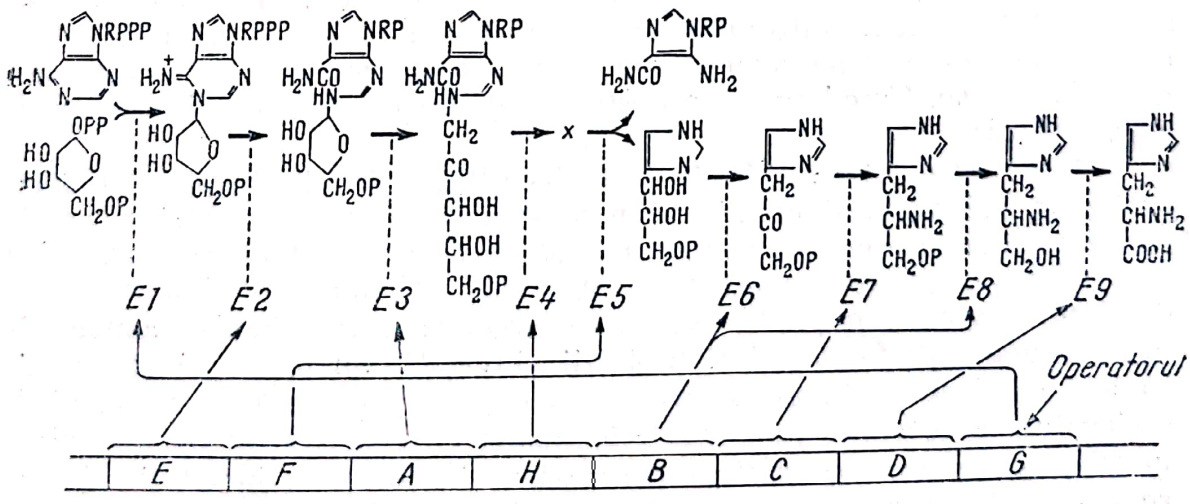



Fig. 183. Harta genetică a regiunii *his* de la Salmonella typhimurium în care sînt prezentate cele 8 gene ce controlează sinteza a 9 enzime ale lanțului metabolic ce începe cu adenozină trifosfat și fosforilază pirofosfat și se termină cu histidină (după Ames și Hartman, 1963).

O altă cale prin care este controlată cantitatea de proteine sintetizate în celule este *modularea*. După cum se știe, cei 20 de aminoacizi sînt codificați de 64 codoni, ceea ce înseamnă că unii aminoacizi sînt transferați la locul de sinteză nu de unul, ci de mai mulți A R N-t. Dacă se consideră că în mediu diferiți A R N-t ce codifică același aminoacid sînt prezenți în cantități diferite, aceasta determină pentru fiecare codon o probabilitate diferită de a încorpora A R N-t corespunzător. Fenomenul prin care cantitatea de proteine sintetizate este reglată prin folosirea de diferiți A R N-t ce se pot afla în cantități diferite în mediu, a fost denumit *modulare*. De aici se poate deduce că o parte din cele 64 de tipuri de A R N-t se află în mediu în cantitate redusă și în felul acesta reduc viteza de transfer a informației ereditare a A R N-m în sinteză proteică. H. A. Itano (1963) explică cu ajutorul modulării faptul că la indivizii umani heterozigoți pentru talassemie, hemoglobina normală este sintetizată în cantități mai mari decît cea anormală, deși teoretic ele ar trebui să se afle în cantitate egală.

## ACIZII NUCLEICI ȘI MEMORIA

Relativ recent s-a descoperit că memoria are o natură biochimică și că înregistrarea informațiilor se realizează cu ajutorul acizilor nucleici. Hyden (1960) de la Universitatea din Göteborg a constatat experimental că în creierul șobolanilor cărora li se impun eforturi de memorie, de pildă la cei la care se elaborează reflexe condiționate, au loc schimbări cantitative și calitative ale nucleotidelor ce intră în alcătuirea acizilor nucleici, comparativ cu șobolanii neantrenați. Astfel, el a observat că în timpul antrenamentului crește cantitatea de nucleotide în celulele nervoase și se reduce în celulele nevroglice care înconjură celulele nervoase. Totodată se mărește cantitatea de adenină și se reduce cea de citozină.

J. V. Mc Conell de la Universitatea din Michigan a studiat problema substratului chimic al memoriei la planarii, viermi acvatici care au un sistem nervos central destul de dezvoltat. La aceste animale s-au elaborat reflexe condiționate, de pildă animalele au fost învățate după un anumit număr de exerciții să reacționeze la lumină sau să-și caute hrana, într-un labirint. Indivizii „învățați" au fost apoi secționați în așa fel încît o jumătate păstrează organul nervos central, similar creierului, iar cealaltă jumătate este lipsită de acest organ nervos. Planariile au o mare capacitate regenerativă și cele două jumătăți devin relativ repede indivizi normali. S-a constatat că ambele jumătăți manifestă reflexul condiționat respectiv, moștenit de la individul inițial. Pornind de la această experiență, J. V. Mc Conell a studiat mai departe modul cum se înregistrează biochimic memoria la viermele pro-

venit din jumătatea lipsită de organ nervos central. S-a observat că sub influența tratamentului cu ribonuclează, enzimă ce hidrolizează acidul ribonucleic celular, se produce „uitarea". Pe această bază s-a tras concluzia că memoria în cazul respectiv este înregistrată biochimic în moleculele de acid ribonucleic din celulele organismului.

Mai recent s-a dovedit că prin transferul de acid ribonucleic extras din creierul unor șobolani la care se elaboraseră anumite reflexe condiționate și prin introducerea sa în creierul altor șobolani lipsiți de aceste reflexe, este posibilă transmiterea reflexelor condiționate respective. Este o dovadă directă că suportul biochimic al memoriei la animale superioare este alcătuit din acizi ribonucleici.

După cît se pare, acizii nucleici constituie un material foarte bun pentru înregistrarea informațiilor de diferite tipuri ale organismelor.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL XVI

# MECANISMUL MOLECULAR AL MUTAȚIEI

Cercetările de genetică moleculară din ultimile decenii au creat premisele descoperirii modului cum acționează factorii mutageni asupra organismelor la nivel molecular. Studiul bazelor biochimice ale procesului mutagen a permis astfel descoperiri importante privind influența factorilor mutageni asupra acizilor nucleici (A D N și A R N) și asupra codului și reglajului genetic, precum și a procesului de biosinteză a proteinelor.

## IPOTEZA LUI WATSON-CRICK

De altfel, chiar J. D. Watson și F. H. Crick (1953) care au descoperit structura macromoleculei de A D N au emis ipoteza că *mutația nu este altceva decît o „eroare" în succesiunea nucleotidelor acizilor nucleici.* O cauză a unor astfel de erori o constituie existența unor baze azotate sub formă tautomerică rară, apărută, de pildă, prin schimbarea poziției unui atom de hidrogen. În mod normal, adenina (A) se împerechează în lanțul polinucleotidic cu timina (T), însă forma tautomerică a adeninei — apărută prin schimbarea poziției unui atom de hidrogen — se poate împerechea cu citozina (C), adică A-T devine A-C. Ținînd seama că citozina are afinitate chimică pentru guanină (G), la replicația următoare a macromoleculei de A D N, legătura A-C se transformă în G-C. Aceasta înseamnă în ultimă analiză că perechea de baze azotate A-T este înlocuită cu perechea de baze G-C, fapt care modifică codul genetic și poate duce la apariția mutației. Ulterior s-a dovedit

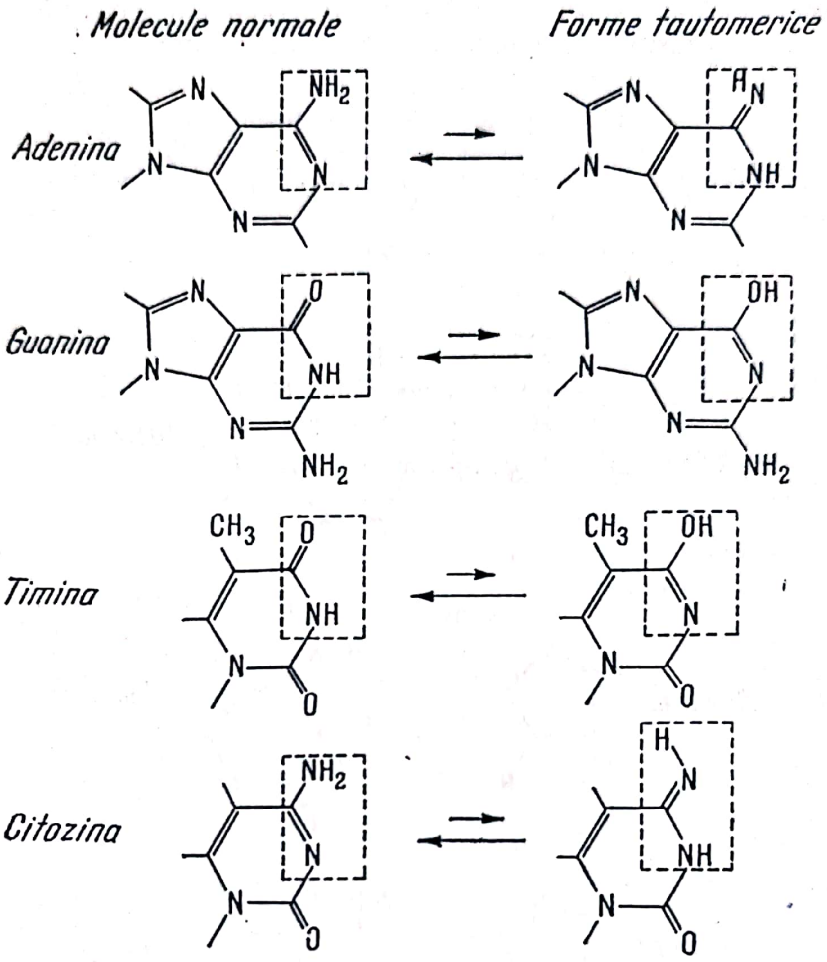



Fig. 184. Fenomenul de tautomerism la cele 4 baze azotate ale A D N.

experimental că aceasta este într-adevăr una dintre căile de apariție a mutațiilor la nivel molecular.

F. C r i c k (1961), bazat pe cercetările proprii și ale lui S. B e n z e r (1958) la bacteriofagul T 4, propune mai recent următoarea ipoteză pentru a explica mecanismul molecular al unor mutații de tip *r* II: *prin deleția unei nucleotide* ($A^-$) are loc o modificare nu numai în tripleta respectivă, dar și în toate tripletele următoare, ținîndu-se seama că codul genetic are o anumită direcție de unde începe a fi descifrat. Ca urmare tripletele se modifică din A B C în B C A, iar aminoacidul codificat alanina este înlocuit cu glutamina și apare fenomenul mutațional. Prin *adiția unei nucleotide* ($B^+$) tripleta B C A se transformă în A B C, iar aminoacidul glutamina este înlocuit cu alanina. Rezultatul adiției ce succede deleției este restaurarea tipului inițial, adică reapariția tipului sălbatic al bacteriofagului T 4. Primul tip de modificare

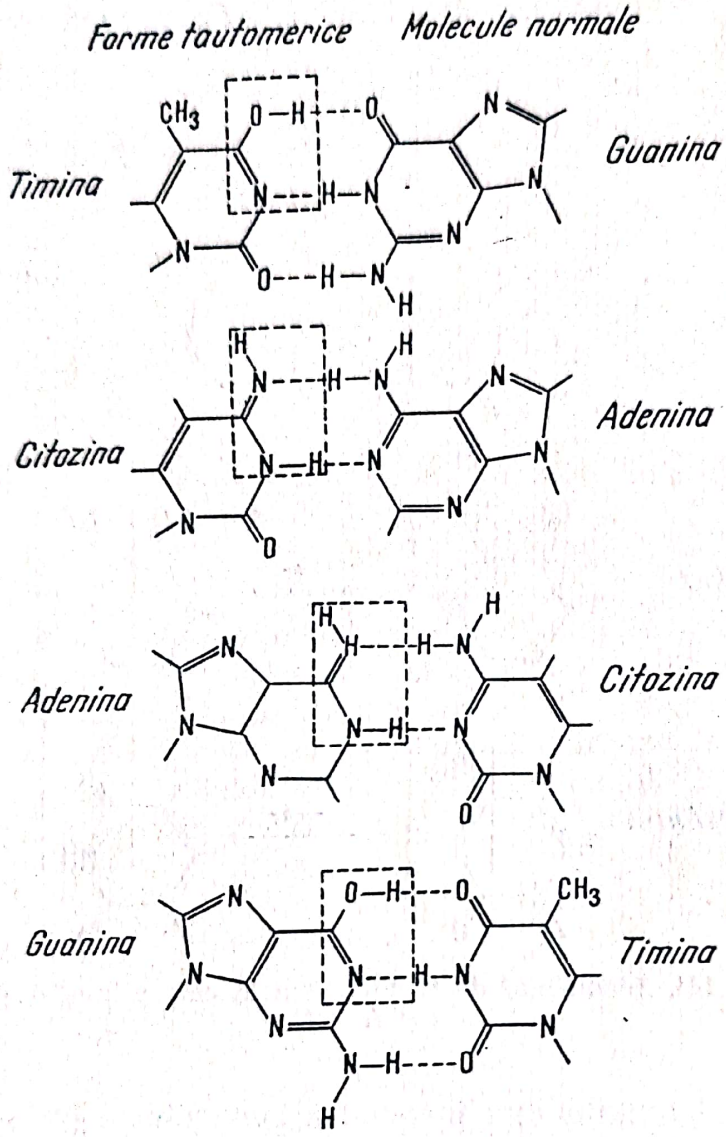



Fig. 185. Împerecherea greșită a bazelor azotate datorită fenomenului de tautomerism.

a codului genetic duce la apariția unei *mutații directe* (forward mutation), în timp ce al doilea tip de transformare duce la reapariția tipului sălbatic inițial și se cheamă *mutație de reversie* (back mutation sau reverse mutation). În partea de jos a tabloului este prezentată o modificare similară care se realizează prin adiția unei nucleotide ($A^+$) și care duce la apariția mutației, modificare ce este urmată de fenomenul deleției ($C^-$) prin care se restaurează situația inițială și apare o mutație de reversie, adică tipul sălbatic al bacteriofagului T 4.

**EFECTUL ADIȚIEI SAU DELEȚIEI UNEI SINGURE NUCLEOTIDE IPOTETICE ASUPRA CODULUI GENETIC IN REGIUNEA r II A BACTERIOFAGULUI T 4**
(După F. Crick, 1961)

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tipul sălbatic | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | A B C | A B C | A B C | A B C | A B C | A B C | A B C | A B C |
| | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala |
| ↓ Deleție (mutație) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | A B C | $A^-$ B C A | B C A | B C A | B C A | B C A | B C A | B C A |
| | Ala | Glu | Glu | Glu | Glu | Glu | Glu | Glu |
| ↓ Adiție (mutație) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | A B C | B C A | B C A | $B^+$ B C | A B C | A B C | A B C | A B C |
| | Ala | Glu | Glu | Val | Ala | Ala | Ala | Ala |
| Tipul sălbatic | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | A B C | A B C | A B C | A B C | A B C | A B C | A B C | A B C |
| | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala |
| ↓ Adiție (mutație) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | A B C | $A^+$ A B | C A B | C A B | C A B | C A B | C A B | C A B |
| | Ala | Ser | Leu | Leu | Leu | Leu | Leu | Leu |
| ↓ Deleție (mutație) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | A B C | $A^+$ A B | C A B | $C^-$ A B C | A B C | A B C | A B C | A B C |
| | Ala | Ser | Leu | Ala | Ala | Ala | Ala | Ala |

## IPOTEZA „ERORILOR" DE INCLUDERE ȘI DE REPLICAȚIE ALE A D N și A R N

Cercetări valoroase privind mecanismul molecular al mutației au fost efectuate de E. Freese (1959, 1961, 1963), care a clasificat tipurile de modificări ce pot apărea în perechile de nucleotide în procesul de replicație al macromoleculei de A D N. Astfel, dacă se ia ca bază (I) un fragment din macromolecula normală de A D N în care este prezentată o succesiune de 10 perechi de nucleotide (vezi desenul alăturat), se poate observa *schimbarea unei perechi de nucleotide* (II) a formei

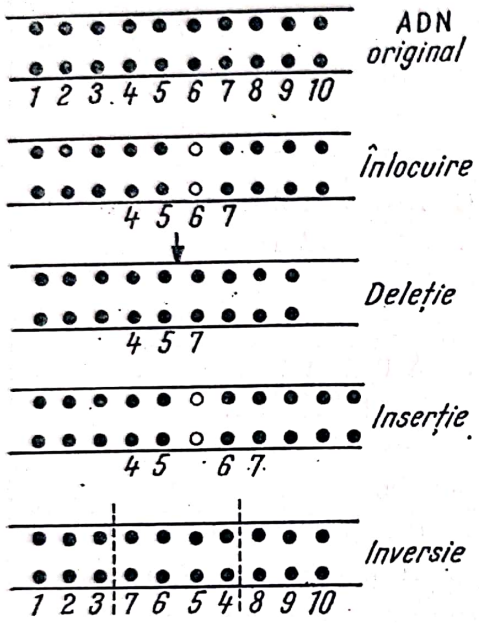
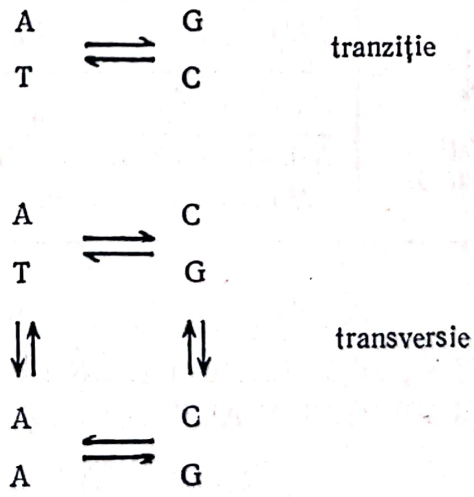



Fig. 186. Tipurile de modificări ale macromoleculei de ADN (după Freese).

inițiale (marcate cu cercuri negre) cu o altă pereche de nucleotide (marcate cu cercuri albe), *deleția unei perechi de nucleotide* (III), *adiția unei perechi de nucleotide* (IV) și *inversia unui fragment de macromoleculă conținînd mai multe perechi de nucleotide* (V).

Sub influența unor factori mutageni intracelulari sau din mediul de viață al organismelor, în bună măsură necunoscuți, *apar în procesul de replicație al acizilor nucleici unele „erori"* care duc la apariția de mutații. Schimbarea unei baze purinice în macromolecula de ADN sau ARN cu o altă bază purinică sau a unei baze pirimidinice cu o altă bază pirimidinică a fost denumită de E. Freese (1963) *tranziție,* în timp ce schimbarea unei baze purinice cu o bază pirimidinică sau invers a fost denumită *transversie.* Ținînd seama că în ADN există două lanțuri polinucleotidice paralele, sînt posibile următoarele schimbări ale perechilor de nucleotide :




În aceste procese, un rol important îl au existența unor forme rare tautomere ale bazelor azotate. Fenomenele de tranziție și transversie determină modificări în succesiunea normală a perechilor de nucleotide și respectiv a codului genetic.

Acest tip de mecanism molecular mutagen se observă mai ales în cazul mutațiilor spontane, la care însă este foarte greu de determinat

cauza precisă ce a dus la apariția erorilor de replicație. S-a constatat însă că unele organisme, cum sînt, de pildă, bacteriile sau diferitele specii ale genului *Drosophila,* manifestă o frecvență sporită a mutațiilor spontane. Totodată s-a remarcat că factorii mutageni acționează atît asupra A D N aflat în replicație cît și la cel în stare de repaus. S-a constatat astfel că păstrarea un timp mai îndelungat a semințelor, a grăunciorilor de polen, a bacteriilor, a virusurilor etc. determină o mărire considerabilă a frecvenței mutațiilor. Trebuie remarcat că în celulele care nu se află în stare de diviziune, metabolismul A R N este de 50—100 ori mai activ ca al A D N. De aceea se poate considera că pe lîngă „erorile" de replicație la nivelul A D N, intervin și „erori" la nivelul A R N, care, după cum se știe, constituie intermediarul care transferă informația ereditară de la A D N din nucleu în citoplasmă spre locul de biosinteză a proteinelor.

Cercetări experimentale privind „erorile" de replicație ale acizilor nucleici au permis efectuarea unor calcule teoretice privind frecvența apariției lor. De pildă la om, ținînd seama că într-un cromozom se află 5 000—6 000 molecule de A D N cu greutatea moleculară de $6 \times 10^6$, aceasta înseamnă că în fiecare celulă diploidă ($2n = 46$) se află aproximativ 600 000 molecule A D N. Luîndu-se în considerație că frecvența mutațiilor naturale la om este de $1 \times 10^5$—$1 \times 10^6$ la o generație, se poate considera că la o diviziune celulară apare o „greșeală" într-o moleculă de A D N. Pe această bază, J. A. Medvedev (1963) a calculat că la 20 000—30 000 de replicații ale A D N nu apare mai mult decît o „eroare" ce afectează o pereche de nucleotide din cele 10 000 conținute într-o singură celulă de A D N, ceea ce înseamnă că o modificare a succesiunii nucleotidelor apare la $3 \times 10^8$ de nucleotide. Această frecvență foarte scăzută a „greșelilor" poate explica marea stabilitate metabolică a A D N și respectiv conservatismul ereditar al viețuitoarelor.

În ceea ce privește manifestarea mutațiilor s-a constatat că modificarea codului genetic, respectiv a tripletelor de baze azotate, determină înlocuirea unor aminoacizi cu alții în lanțul polipeptidic. După datele lui Ch. Ianosky (1964) la mutațiile apărute la virusul mozaicului tutunului (V M T), la hemoglobina umană (Hb) și la triptofan sintetaza (T S) proteinei A de la *Escherichia coli,* au fost înregistrate schimbări la 15 aminoacizi care au fost înlocuiți cu alții, astfel că în total numărul modificărilor este de 41. De pildă, arginina a fost înlocuită în lanțul polipeptidic într-un anumit loc cu unul din următorii aminoacizi : lisina, glutamina, treonina, serina, iar glutamina a fost înlocuită cu unul din aminoacizii următori : glicocol, valină, lisină, alanină, acid glutamic.

| Aminoacizii modificați | Proteine | Aminoacizii modificați | Proteine |
|---|---|---|---|
| Alanină → Glutamină | T S | Glicocol → Cisteină | T S |
| Arginină → Lisină | V M T | Histidină → Tirosină | Hb |
| Arginină → Glutamină | V M T, T S | Histidină → Arginină | Hb |
| Arginină → Treonină | T S | Isoleucină → Treonină | V M T |
| Arginină → Serină | T S | Isoleucină → Valină | V M T |
| Asparagină → Alanină | V M T | Isoleucină → Metionină | V M T |
| Asparagină → Glutamină | V M T | Leucină → Arginină | V M T |
| Asparagină → Serină | V M T | Leucină → Fenilalanină | V M T |
| Asparagină $NH_2$ → Lisină | Hb, V M T | Prolină → Serină | V M T |
| Asparagină $NH_2$ → Arginină | V M T | Prolină → Leucină | V M T |
| Asparagină $NH_2$ → Serină | V M T | Serină → Fenilalanină | V M T |
| Glutamină → Glicocol | Hb, VMT, TS | Serină → Leucină | V M T |
| Glutamină → Valină | Hb, T S | Serină → Arginină | T S |
| Glutamină → Lisină | Hb | Treonină → Isoleucină | VMT, T S |
| Glutamină → Glutamină $NH_2$ | Hb | Treonină → Metionină | V M T |
| Glutamină → Alanină | T S | Treonină → Serină | V M T |
| Glutamină → Valină | V M T | Tirosină → Cisteină | T S |
| Glicocol → Asparagină | Hb, T S | Valină → Glutamină | T S |
| Glicocol → Arginină | T S | Valină → Alanină | T S |
| Glicocol → Glutamină | T S | Valină → Glicocol | T S |
| Glicocol → Valină | T S | | |

Scanned with OKEN Scanner

Studiul procesului mutagen la nivel molecular arată deci că modificările în macromolecula A D N și A R N, intervenite sub influența factorilor mutageni din mediu, înseamnă schimbarea informației ereditare conținute și respectiv a codului genetic, a procesului de biosinteză a proteinelor. În felul acesta apare mutația, ca o modificare bruscă a eredității organismelor.

## RADIAȚIILE MUTAGENE ȘI MECANISMUL LOR MOLECULAR

Mecanismul molecular al radiațiilor mutagene ionizante și neionizante nu este prea bine cunoscut. Radiațiile ionizante, cum sînt razele X, gamma și neutronii rapizi, datorită puterii lor penetrante, au efect mutagen asupra tuturor tipurilor de organisme, inclusiv plantele și animalele superioare. Radiațiile ultraviolete sînt neionizante și ele avînd o capacitate penetrantă redusă sînt mutagene numai pentru microorganisme sau culturi de celule care nu constituie un strat prea gros.

Radiațiile ionizante au un puternic efect mutagen datorită probabil faptului că cle sînt capabile să provoace modificări structurale în biomoleculele ce intră în alcătuirea materiei vii. De pildă s-a dovedit in vitro că radiațiile ionizante pot provoca rupturi în lanțul polinucleotidic al A D N și A R N, precum și depolimerizarea macromoleculelor respective.

Mecanismul mutagen al radiațiilor neionizante de tipul celor ultraviolete a fost mai bine studiat. În prezent se știe, de pildă, că radiațiile ultraviolete cu lungimea de undă de $\pm$ 2 600 Å sînt cele mai mutagene, datorită faptului că ele sînt absorbite selectiv de acidul dezoxiribonucleic. În ceea ce privește modul de acțiune la nivelul A D N s-a constatat experimental că radiațiile U.V. pot induce formarea unor legături anormale între baze pirimidinice, în special între nucleotidele ce conțin timină, acest fenomen constituind cauza cea mai importantă a modificării macromoleculelor de A D N și respectiv a mutațiilor. Alte cercetări par să indice că radiațiile U.V. provoacă dezaminarea citosinei și transformarea în uracil, fapt care ar determina schimbări în codul genetic în cursul replicațiilor acizilor nucleici.

## FACTORII MUTAGENI CHIMICI CARE BLOCHEAZĂ BIOSINTEZA ACIZILOR NUCLEICI

Cercetările asupra mecanismului molecular al mutației au dus la identificarea unei grupe vaste de substanțe chimice care blochează formarea bazelor azotate purinice sau pirimidinice și în felul acesta însăși procesul de biosinteză al acizilor nucleici, fapt care duce la apariția de



Scanned with OKEN Scanner

mutații. R. E. Handschumacher și A. D. Welch (1960), E. Freese (1963) și alți cercetători au ajuns la concluzia că probabil blocarea sintezei unei anumite baze azotate determină apariția unor „erori" în procesul de împerechere normală a nucleotidelor purinice cu cele pirimidinice în lanțul polinucleotidic al acizilor nucleici, fenomen pus în evidență și de apariția unor anomalii la nivelul cromozomilor. Iată după E. Freese (1963) un tabel cu factori mutageni care blochează sinteza bazelor azotate ce intră în alcătuirea acizilor nucleici :

| Factorii mutageni | Bazele azotate a căror sinteză este blocată | Speciile la care s-a observat efectul mutagen |
|---|---|---|
| 5 — aminouracil | timina | *Escherichia coli* |
| azaserina | adenina<br>guanina | *Escherichia coli* |
| benzimidazol | adenina<br>guanina | *Escherichia coli* |
| cofeina | adenina<br>guanina | *Escherichia coli*<br>*Drosophila melanogaster* |
| 8 — etoxicofeina | timina | — |
| etiluretan | adenina<br>guanina | *Oenothera lamarckiana*<br>*Drosophila melanogaster* |
| 6 — merkaptopurina | adenina<br>guanina | *Escherichia coli* |
| 5 — nitroxinoxalina | adenina<br>guanina | *Escherichia coli* |
| paraxantina | adenina<br>guanina | *Escherichia coli* |
| acid tetrametil | adenina<br>guanina | *Escherichia coli* |
| teobromina | adenina<br>guanina | *Escherichia coli* |
| teofilina | adenina<br>guanina | *Escherichia coli* |
| insuficiența timinei | — | *Escherichia coli* |
| excesul de uracil | — | *Escherichia coli* |

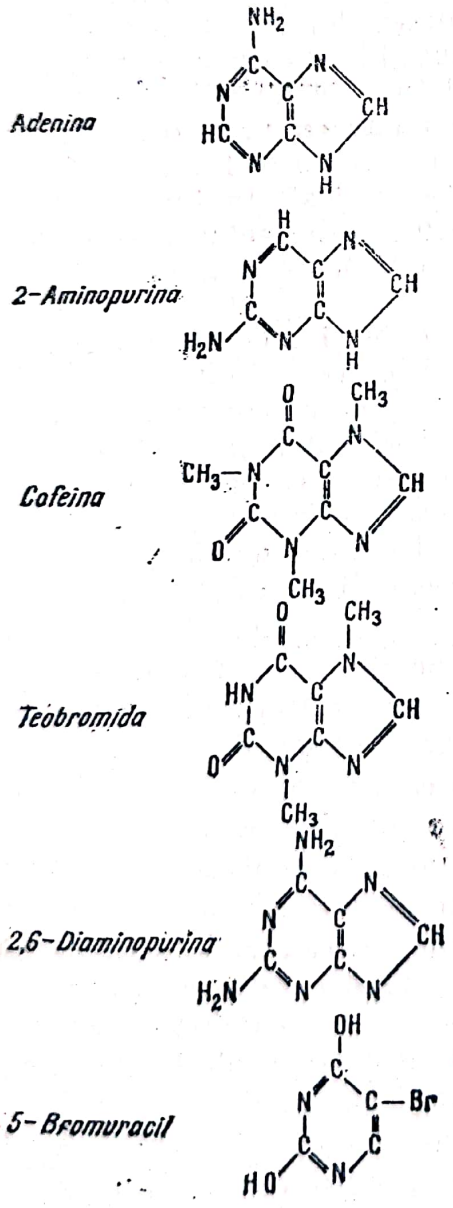
Cel mai puternic factor mutagen dintre cei prezentați în tabel s-a dovedit a fi azaserina, care blochează sinteza bazelor azotate purinice și este în același timp un puternic agent alkilant, inhibînd diviziunea celulară.

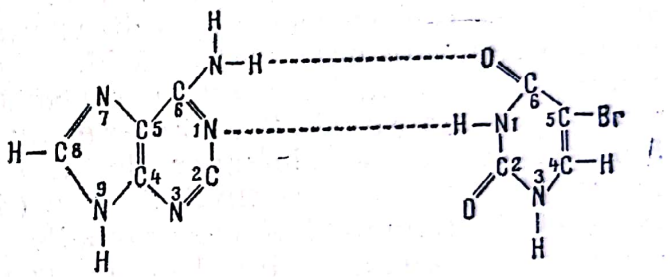
Scanned with OKEN Scanner

## ANALOGII BAZELOR AZOTATE ȘI MECANISMUL LOR MUTAGEN

Analogi ai bazelor azotate purinice și pirimidinice, cum sînt : 5-bromuracilul, 5-bromdezoxiuridina, 5-cloruracilul, 5-fluoruracilul, 5-iod-uracilul, 2-oxipurina, 2-aminopurina, 2-6-diaminopurina etc., pot fi încorporați în macromolecula acizilor nucleici în locul bazelor azotate naturale, aceasta avînd ca rezultat apariția mutantelor. Procesul mutagen la nivelul acizilor nucleici are două etape :

*1.* — includerea unor analogi ai bazelor azotate în locul bazelor naturale într-unul sau mai multe locuri din macromoleculă. Această etapă se bazează deci pe *greșeli de includere* a nucleotidelor în macromolecula acizilor nucleici.



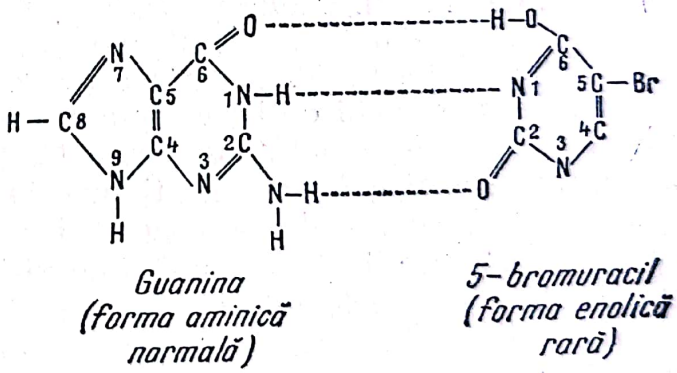




Fig. 188. 5 — Bromuracilul poate înlocui în macromolecula de A D N timina și mai rar citozina.

Fig. 187. Baze azotate și analogi ai lor cu efect mutagen.

2. — replicația macromoleculelor acizilor nucleici care conțin analogi ai bazelor azotate. În această etapă apar deci *greșeli de replicație.*

Dintre derivații halogenați ai uracilului este mai bine cunoscută acțiunea mutagenă a 5-*bromuracilului* și 5-*bromdezoxiuridinei. S. Benzer* și *E. Freese* (1958) au studiat efectul mutagen al 5-bromuracilului asupra bacteriofagului T 4. Prin creșterea bacteriei *Escherichia coli* pe un mediu nutritiv la care s-a adăugat 5-bromuracil, acesta poate înlocui în totalitate timina în macromolecula de A D N. Dacă aceste bacterii sînt apoi infectate cu bacteriofagul T 4 se constată apariția unui număr de mutante *r* cu o frecvență de cîteva sute de ori mai mare decît a mutațiilor spontane. Mutațiile bacteriofagului de tip *r* spontane și induse prin 5-bromuracil au fost apoi folosite pentru alcătuirea unor hărți genetice. Din compararea celor două hărți genetice se observă în primul rînd că în fiecare există anumite mutante *r* care apar cu o frecvență mai mare. În al doilea rînd se constată că distribuția mutantelor în cele două hărți este diferită, fapt care sugerează ideea că mutațiile de tip *r* spontane și induse prin 5-bromuracil au un mecanism diferit de apariție. Într-adevăr S. Benzer și E. Freese au constatat că prin tratarea cu 5-bromuracil a bacteriofagilor de tip *r* apăruți natural, frecvența mutațiilor de reversie spre tipul sălbatic (+) este redusă, în timp ce tratarea cu 5-bromuracil a bacteriofagilor apăruți prin includerea analogilor bazelor azotate a dus la o frecvență foarte mare a mutațiilor de reversie.

Pe această bază E. Freese (1963) explică mecanismul molecular de apariție a mutațiilor prin includerea 5-bromuracilului în macromolecula de A D N, explicație în bună măsură ipotetică, dar care pentru moment în lipsa unui material experimental mai bogat poate fi acceptată. Astfel, după R. P. Levine (1962), dacă se ia o succesiune oarecare de patru perechi de baze azotate, notate convențional adenina = A, timina = T, citosina = C, guanina = G, prin tratarea cu 5-bromuracil (B U), acest analog înlocuiește timina, împerechindu-se deci cu adenina. Foarte rar 5-bromuracilul se poate împerechea cu guanina. Ținînd seama de aceste observații, fenomenul înlocuirii perechii de nucleotide A-T cu perechea de nucleotide G-C poate fi explicat astfel : prin tratarea cu B U, acesta înlocuiește timina într-o primă etapă de replicație a A D N, iar în etapa următoare B U se împerechează cu G. În sfîrșit, în a treia etapă B U este înlocuit de C, cu care guanina se împerechează în mod normal. Rezultatul este schimbarea unei perechi de nucleotide cu alta și apariția mutației. Există însă și posibilitatea unui mecanism în care ordinea schimbărilor este diferită : mai întîi are loc înlocuirea citosinei cu B U, fenomen de altfel foarte rar, după care în etapa următoare de replicație a A D N, guanina este înlocuită de adenină. În sfîrșit, în ultima etapă B U este înlocuit de T, rezultatul final fiind înlocuirea perechii de nucleotide G-C cu perechea A-T. Pe baza ipotezei lui E. Freese există deci posibilitatea schimbării A-T cu G-C sau T-A cu C-G, fapt care poate constitui o explicație și pentru frecvența mare a

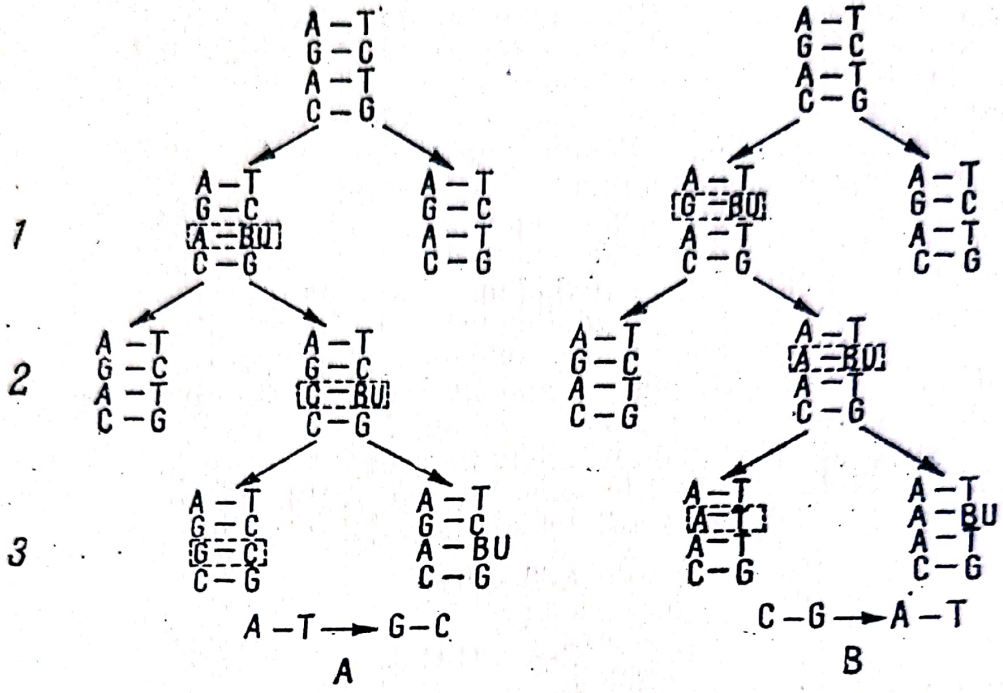
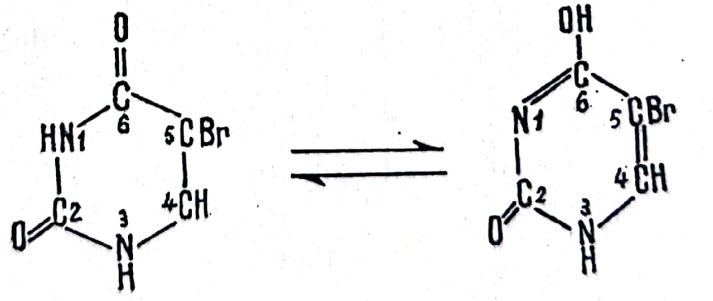



Fig. 189. Mecanismul modificării macromoleculei de A D N sub acțiunea 5 — bromuracilului (după Levine, 1962).

mutațiilor de reversie apărute la bacteriofagii de tip *r* induși prin tratamentul cu 5-bromuracil.

E. Freese (1959), R. M. Litman, A. B. Pardee (1960) au arătat că 5-bromdezoxiuridina este un agent mutagen mai puternic decît 5-bromuracilul. Cu toate acestea, 5-bromdezoxiuridina se folosește mult mai puțin din cauză că se degradează ușor și își pierde astfel efectul mutagen.

Ceilalți derivați halogenați ai uracilului au, de asemenea, efect mutagen, iar mecanismul molecular de apariție al mutației este similar



5 — bromuracil (forma cetonică normală)

5 — bromuracil (forma enolică rară)

cu cel al 5-bromuracilului. Trebuie menționat că în acest mecanism molecular un rol important îl are faptul că derivații halogenați ai uracilului au posibilitatea să se afle ca și celelalte baze azotate în diferite stări tautomere.

Ținînd seama de stările tautomere în care se află 5-bromuracilul, se poate explica de ce el înlocuind pe analogul său timina în macromolecula de A D N se împerechează cu adenina în mod normal și numai în cazuri foarte rare se împerechează cu guanina.

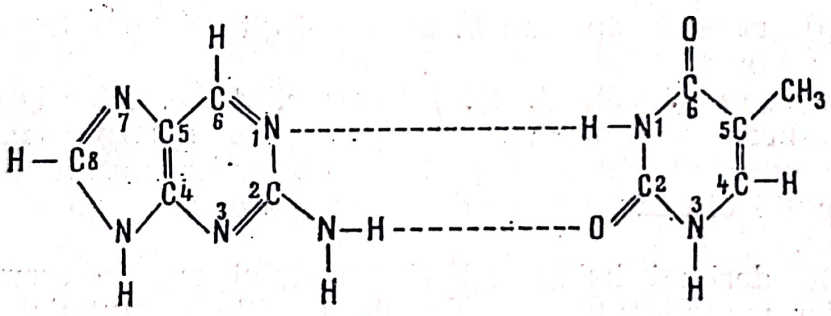
*2-aminopurina și 2-6-diaminopurina* sînt analogi ai bazelor azotate purinice a căror acțiune mutagenă a fost descoperită de E. F r e e s e (1959). Mecanismul molecular de apariție a mutațiilor induse cu ajutorul 2-aminopurinei, a cărei acțiune este mai bine cunoscută, diferă considerabil de cel al derivaților halogenați ai uracilului. Astfel s-a constatat de către *E. Freese* (1959, 1963) că 2-aminopurina (A P) este inclusă în macromolecula acizilor nucleici în locul adeninei și se împerechează cu timina prin două punți de hidrogen. Numai în cazuri foarte rare 2-aminopurina înlocuiește guanina și ca urmare se împerechează cu citosina printr-o singură punte de hidrogen. Ulterior, în procesul de replicație al acizilor nucleici, legătura AP-T este înlocuită cu A P-C și apoi cu G-C. În felul acesta pot apărea modificări ale perechilor de nucleotide de tipul :

A-T → G-C

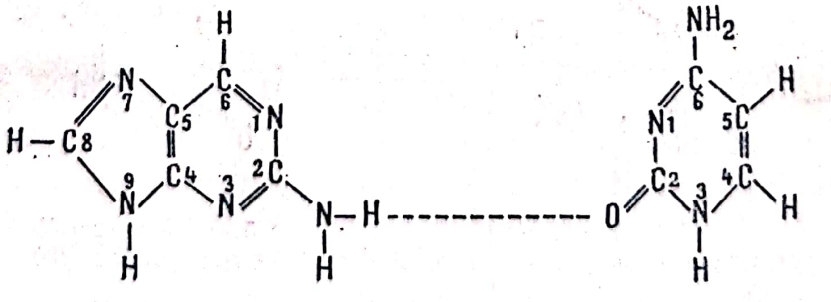
sau

T-A → C-G

Rezultatul este bineînțeles modificarea tripletelor și respectiv a codului genetic și apariția mutațiilor.



*2-Aminopurina* *Timina*



*2-Aminopurina* *Citozina*

Fig. 190. Mecanismul de includere a 2 — aminopurinei în macromolecula de A D N în locul adeninei și mai rar al guaninei.

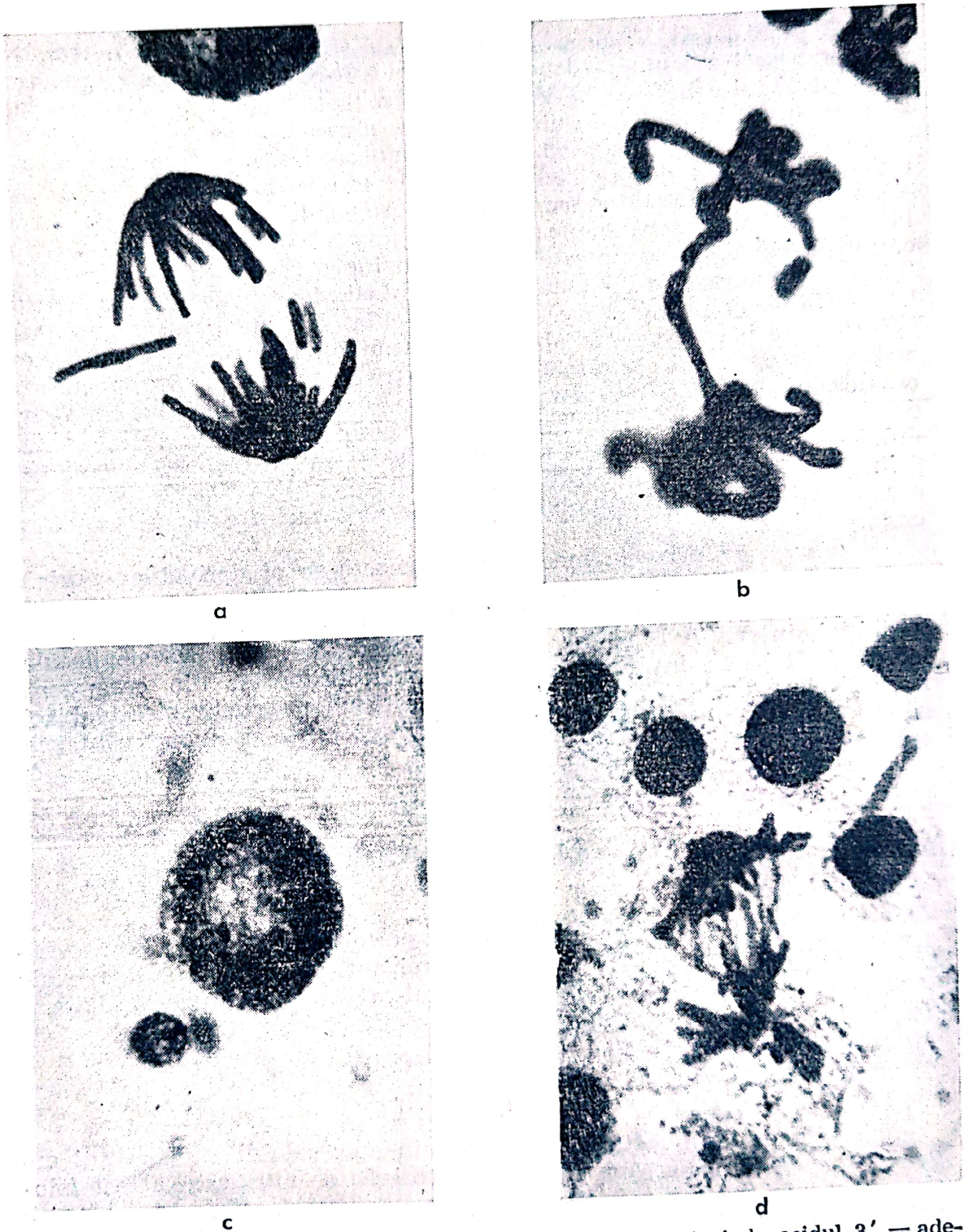



Fig. 191. Aberații cromozomiale induse de adenină (a, b, c) și de acidul 3′ — adenilic (d) la *Vicia faba*: anafaze cu cromozomi retardatari (a) și cu punte heterocromatică (b), celulă cu un micronucleu (c), anafază picnotică cu numeroase punți heterocromatice (d) (original).

Scanned with OKEN Scanner

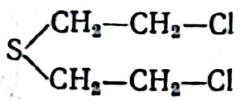
P. Raicu şi V. Stoian (1966) au studiat influenţa a trei derivaţi purinici (adenină, adenozină şi acid 3′-adenilic) asupra cromozomilor şi ciclului mitotic la *Vicia faba*. În primul rînd s-a constatat că adenina, spre deosebire de alte substanţe citostatice de tipul colchicinei care blochează metafazele, opreşte diviziunea celulară în profază şi măreşte considerabil durata ciclului mitotic (de la 12 la 20 ore). Acidul 3′-adenilic măreşte, de asemenea, durata ciclului mitotic de la 12 la 14—16 ore, în timp ce adenozina nu afectează lungimea ciclului mitotic, ci numai reduce frecvenţa celulelor în diviziune.

De asemenea, studiul efectelor adeninei şi adenozinei asupra celulelor în diviziune, a arătat că cele două substanţe afectează cromozomii, inducînd variate tipuri de aberaţii, şi anume : fragmentări, punţi cromatice, cromozomi eliminaţi din placa ecuatorială în metafază, cromozomi întîrziaţi (retardatari), anafaze şi cromozomi dispuşi în formă de stea (pseudoanafaze), micronuclei şi celule binucleate. Acţiunea acidului 3′-adenilic a fost mult mai puternică şi ea s-a manifestat mai ales prin apariţia cu mare frecvenţă a cromozomilor picnotici cu aspect vîscos, datorită probabil depolimerizării acizilor nucleici de la suprafaţa cromozomilor.

În ceea ce priveşte mecanismul de acţiune al derivaţilor purinici asupra diviziunii celulare şi aparatului cromozomial, se consideră că efectul mai puternic al acidului 3′-adenilic se datoreşte, pe de o parte, inhibiţiei sintezei A D N, iar, pe de alta, depolimerizării macromoleculelor de A D N ce intră în alcătuirea nucleohistonelor din cromozomi. Aceasta din cauză că acidul 3′-adenilic este un precursor direct al acizilor nucleici, în timp ce ceilalţi doi derivaţi purinici studiaţi sînt precursori indirecţi.

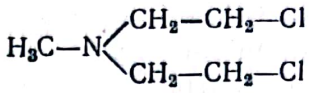
## AGENŢII ALKILANŢI CA FACTORI MUTAGENI

Din grupul agenţilor alkilanţi fac parte numeroase substanţe chimice mutagene care au una, două sau mai multe *grupe alkil funcţionale* (— $CH_3$ ; — $CH_2$ — $CH_2$). Unul dintre cei mai cunoscuţi agenţi alkilanţi este *gazul muştar sau iperita,* care este o *sulfură de etil diclorată :*

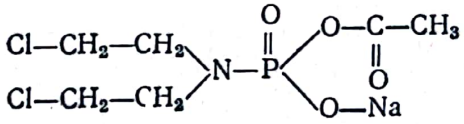


Iperita este o substanţă insolubilă în apă, solubilă în solvenţi organici şi în grăsimi, are un miros caracteristic de muştar şi a fost folosită în primul război mondial ca „gaz de luptă". Ch. Auerbach (1946) a descoperit că iperita este capabilă să inducă mutaţii la *Drosophila melanogaster,* fapt confirmat ulterior pe alte obiecte de cercetare. Cercetări recente au arătat că şi alte substanţe chimice analoge iperitei, cu un număr variat de grupe alkil, sînt mutagene. De pildă s-a pus în

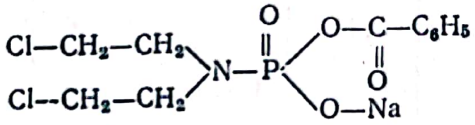
evidență că analogii azotați ai iperitei, cum este N-metil-dicloretilul, induce mutații la *Escherichia coli* și *Vicia faba.*



P. Raicu și S. Bratosin (1964) au studiat efectul mutagen la *Allium cepa, Secale cereale* și *Mesocricetus auratus* a două substanțe alkilante nou sintetizate la Institutul Oncologic București, și anume : O acetil, N, N di (2 cloretil) aminofosfatul de sodiu cu formula :



și O benzoil N, N di (2 cloretil) aminofosfatul de sodiu cu formula :



substanțe care diferă prin prezența unei grupări metil la prima și etil la cea de-a doua și care conțin mai multe grupe alkilante. Rezultatele obținute prin tratarea timp de 3 ore a bulbilor și respectiv semințele celor două specii de plante cu o soluție 2% de O acetil, N, N di (2 cloretil) aminofosfat de sodiu ($C_6H_{11}O_4Cl_2PNa$), prezentate în tabelul următor, arată că au apărut 43,5% și respectiv 40,2% diviziuni mitotice aberante. În mod similar, tratamentul timp de 3 ore cu o soluție de 2% din cealaltă substanță ($C_{11}H_{13}O_4N\ Cl_2P\ Na$) a dat 64,6% și respectiv 30,0% diviziuni aberante. S-a constatat că sînt afectate toate fazele diviziunii celulare, însă procentul cel mai ridicat de aberații ajungînd pînă la 100% îl prezintă metafazele și anafazele. Un efect similar s-a constatat și la hamsterul auriu. În profazele aberante filamentele cromozomiale apar dezagregate și uneori punctiforme : metafazele aberante prezintă cromozomii mult îngroșați, scurți și puternic ade-

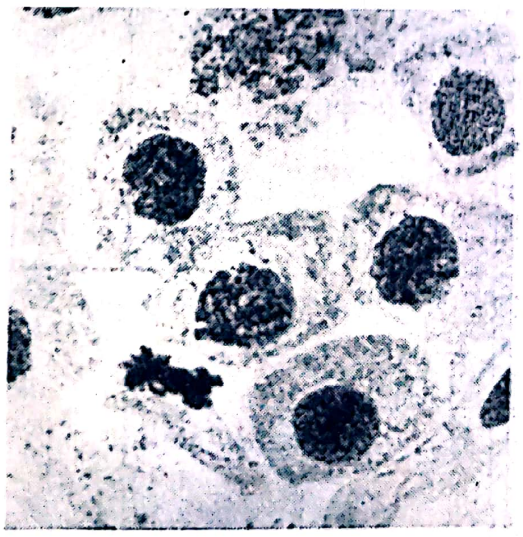


Fig. 192. Fenomenul de picnoză la o anafază de *Allium cepa* (original).

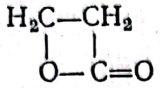
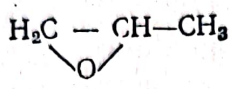
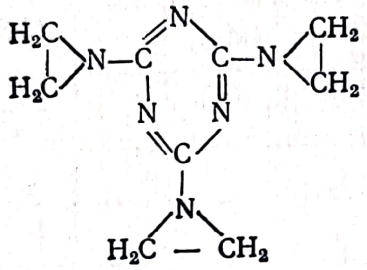
renţi unul de altul, „lipicioşi“ cu aspect picnotic caracteristic ; în anafazele şi telofazele aberante sînt frecvente punţi cromatice sau formaţiuni cu aspect de stea unde cele două mase cromatice sînt mult apropiate, uneori chiar confluente sau unite prin punţi cromatice foarte groase. S-a observat, de asemenea, în urma tratamentului cu aceste două substanţe mărirea numărului de celule aflate în diviziune, datorită parcurgerii mai lente a tuturor fazelor mitozei. În acest fel a fost demonstrat că cele două substanţe acţionează la nivelul A D N din cromozomi, producînd numeroase aberaţii şi avînd efect citostatic, fenomene ce indică faptul că sînt agenţi alkilanţi puternici.

| Variante | Allium cepa | | | Secale cereale | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Nr. global | Diviziuni normale şi aberante | Celule în diviziune % | Nr. global | Diviziuni normale şi aberante | Celule în diviziune % |
| Total celule analizate | 3.348 | — | 100,00 | 4.378 | — | 100,00 |
| Celule în diviziune | 457 | 100,0 | 13,62 | 426 | 100,0 | 9,73 |
| Diviziuni normale | 258 | 56,5 | 7,70 | 255 | 59,8 | 5,82 |
| Diviziuni aberante | 199 | 43,5 | 5,94 | 171 | 40,2 | 3,91 |
| Profaze (total) | 234 | 100,00 | 6,98 | 296 | 100,00 | 6,76 |
| Profaze normale | 201 | 85,9 | 6,00 | 247 | 83,2 | 5,64 |
| Profaze aberante | 33 | 14,1 | 0,98 | 49 | 16,8 | 1,12 |
| Metafaze (total) | 163 | 100,0 | 4,86 | 111 | 100,0 | 2,54 |
| Metafaze normale | 16 | 9,7 | 0,47 | 2 | 2,0 | 0,05 |
| Metafaze aberante | 147 | 90,3 | 4,39 | 109 | 98,0 | 2,49 |
| Anafaze (total) | 10 | 100,0 | 0,29 | 4 | 100,0 | 0,09 |
| Anafaze normale | 5 | 50,0 | 0,145 | 0 | 0 | 0 |
| Anafaze aberante | 5 | 50,0 | 0,145 | 4 | 100,0 | 0,09 |
| Telofaze (total) | 50 | 100,0 | 1,49 | 15 | 100,0 | 0,34 |
| Telofaze normale | 36 | 71,8 | 1,07 | 6 | 41,1 | 0,14 |
| Telofaze aberante | 14 | 28,2 | 0,42 | 9 | 58,9 | 0,20 |

Scanned with OKEN Scanner

Iată după E. Freese (1963) un tabel cu agenții alkilanți mai cunoscuți :

| Substanțe chimice | Formule | Speciile la care s-a observat mai întîi efectul mutagen |
|---|---|---|
| azaserină | $N_2CH_2COOCH_2CH\begin{matrix}NH_2\\COOH\end{matrix}$ | *Escherichia coli* |
| sulfură de butil cloretil | $C_4H_9SC_2H_4Cl$ | *Drosophila melanogaster* |
| diazometan | $N_2CH_3$ | *Drosophila melanogaster*<br>*Neurospora crassa* |
| diepoxibutan | $H_2C-CH-CH-CH_2$ (O, O) | *Neurospora crassa* |
| dietil sulfat | $SO_2(OC_2H_5)_2$ | *Drosophila melanogaster*<br>*Bacteriofagul T 4* |
| dimetil sulfat | $SO_2(OCH_3)_2$ | *Drosophila melanogaster*<br>*Escherichia coli*<br>*Vicia faba* |
| epiclor hidrină | $H_2C-CH-CH_2Cl$ (O) | *Neurospora crassa* |
| etilenoxid | $H_2C-CH_2$ (O) | *Drosophila melanogaster* |
| etilenimină | $H_2C-CH_2$ (N, H) | *Drosophila melanogaster*<br>*Vicia faba* |
| etiletan sulfonat | $H_5C_2OSO_2C_2H_5$ | *Bacteriofagul T 4* |
| etilmetan sulfonat | $H_5C_2OSO_2CH_3$ | *Drosophila melanogaster*<br>*Bacteriofagul T 4* |
| formaldehida | $CH_2O$ | *Drosophila melanogaster* |
| glicidol | $H_2C-CH-CH_2OH$ (O) | *Neurospora crassa* |
| metilmetan | $H_3C\ OSO_2CH_3$ | *Drosophila melanogaster*<br>*Bacteriofagul T 4* |
| N — nitroso — N — metiluretan | ON, $N-COOC_2H_5$, $H_3C$ | *Vicia faba*<br>*Ophistona multiannulatum* |

| Substanţe chimice | Formule | Speciile la care s-a observat mai întîi efectul mutagen |
|---|---|---|
| β — propiolactonă |  | *Escherichia coli* |
| propilenoxid |  | *Neurospora crassa* |
| trietilenmelamină |  | *Escherichia coli* |

H. Heslot (1960) a studiat efectul mutagen asupra plantelor de *Hordeum vulgare* a numeroşi agenţi alkilanţi, descoperind că există o gamă largă de substanţe chimice din acest grup capabile să inducă mutaţii. Printre altele s-a constatat că *dietilsulfatul* $SO_2$ $(OC_2H_5)_2$ şi *etilmetan sulfonatul* $C_2H_5OSO_2CH_3$ *au o foarte puternică acţiune mutagenă,* fiind capabile să inducă 14,6% şi respectiv 50,4% mutaţii cloro-filiene în concentraţii de 0,2—1%.

Cercetările efectuate la virusul mozaicului tutunului au arătat că prezenţa a 1—2 grupe alkilice în substanţa alkilantă respectivă determină inactivarea unei molecule de A R N din V M T, în care după cum se ştie există 6 400 nucleotide.

În ceea ce priveşte mecanismul molecular de inducere al mutaţiilor cu ajutorul agenţilor alkilanţi, cercetările lui E. Freese (1963) şi ale altor cercetători au dus la concluzia că aceste substanţe afectează în primul rînd acizii nucleici în care provoacă numeroase modificări. Printre reacţiile chimice mai importante ale agenţilor alkilanţi cu acizii nucleici pot fi citate :

1. — *alkilarea grupelor fosfat din macromolecula A D N şi A R N,* fenomen care împiedică replicaţia normală a acizilor nucleici sau duce la apariţia unor „erori" de împerechere a bazelor azotate în macromoleculele nou sintetizate.

Alkilarea grupelor fosfat duce la formarea triesterfosfatului, care este instabil și poate fi deci hidrolizat, cu punerea în libertate a grupelor alkil ce pot reacționa mai departe cu acizii nucleici. În acest caz poate avea loc ruperea legăturilor între grupele fosfat și zaharuri din lanțul polinucleotidic, fapt ce determină fragmentarea macromoleculelor de acizi nucleici.

2. — *alkilarea unor baze azotate din macromolecula de A D N sau A R N*, care poate duce la apariția unor analogi ai acestora, cum sînt: 7-metilguanina, 1-metiladenina, 3-metiladenina, 1-3-dimetiladenina, 7-etilguanina etc. Desigur că alkilarea unor baze azotate are consecințe importante nu numai din punct de vedere chimic, ci și ereditar, determinînd modificări ale codului genetic datorită unor „erori" în împerechearea bazelor azotate și în replicația acizilor nucleici.

3. — *depurinizarea macromoleculelor de A D N și A R N* care se realizează prin alkilarea bazelor purinice în poziția N-7 și ruperea legăturilor dintre bazele purinice alkilante și zaharurile alăturate. Rezultatul este eliminarea unor baze purinice din macromolecula acizilor nucleici și apariția fenomenului mutagen.

Uneori procesul de depurinizare a acizilor nucleici, mai ales în cazul unui *p*H mai mic decît 4, este însoțit de fenomenul ruperii unor legături din lanțul polinucleotidic și de fragmentarea macromoleculei. În alte cazuri, prin alkilarea mai ales a guaninei, se formează derivați care se leagă transvers în macromoleculele acizilor nucleici și împiedică

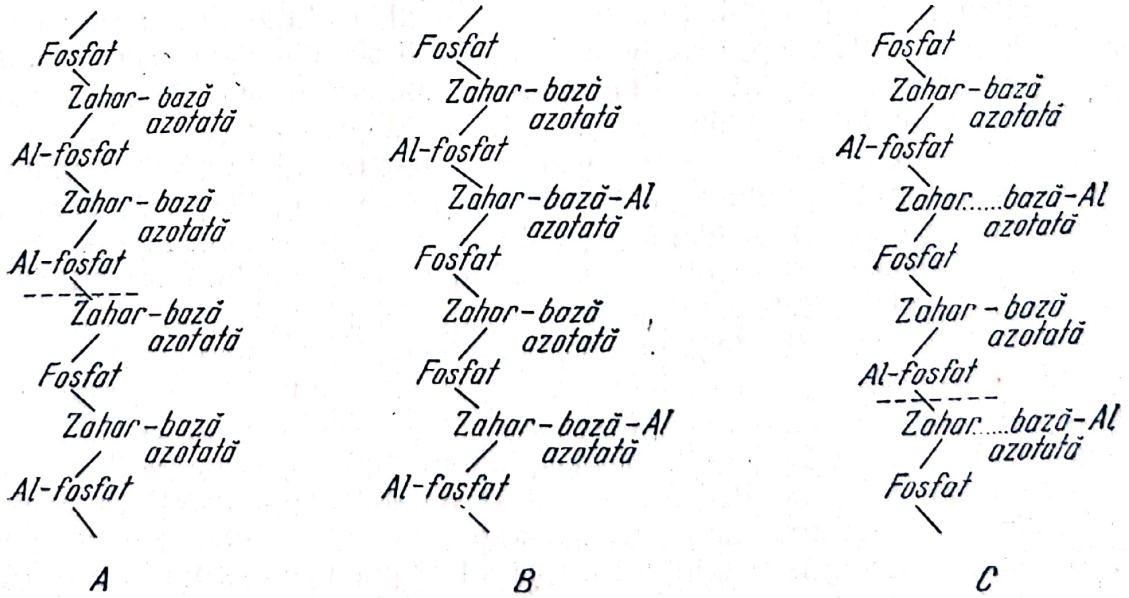



**Fig. 193.** Diferite tipuri de acțiune ale agenților alkilanți asupra macromoleculei de A D N.

replicația macromoleculelor. S-a dovedit experimental că agenții alkilanți bifuncționali manifestă o activitate antimitotică și respectiv letală superioară celor monofuncționali, tocmai datorită fenomenului descris mai sus.

Referitor la influența agenților alkilanți asupra diviziunii celulare, s-a constatat de multă vreme că ei au o *acțiune radiomimetică*, provocînd modificări importante ale nucleului și respectiv cromozomilor, asemănătoare radiațiilor ionizante. Agenții alkilanți au, de asemenea, o *acțiune antimitotică*, blocînd diviziunile celulare, fapt care a determinat folosirea lor în terapia cancerului.

## ALȚI FACTORI MUTAGENI CHIMICI ȘI MODUL LOR DE ACȚIUNE ASUPRA ACIZILOR NUCLEICI

În această categorie de factori mutageni intră o multitudine de substanțe chimice al căror mecanism de acțiune asupra acizilor nucleici este foarte variat și în bună măsură necunoscut. Astfel, cercetările în această direcție au pus în evidență activitatea mutagenă a unor substanțe chimice variate, ca : *acidul nitros, hidroxilamina, hidrazina, clorura de mangan, apa oxigenată, unii coloranți, unele metale grele, unii alcaloizi, 4-nitrochinoleină 1-N-oxid, valorile scăzute ale pH-ului, apa grea* ($D_2O$) etc. În continuare vor fi prezentate succesiv diferitele substanțe chimice mutagene împreună cu mecanismul lor molecular de acțiune cunoscut sau presupus.

*Acidul nitros* ($HNO_2$). Efectul mutagen al acidului nitros este cunoscut de mai mult timp, însă numai în ultimii ani s-a descoperit modul său de acțiune la nivelul acizilor nucleici. Determinarea efectului său mutagen a avut loc în 1958 de către K. W. Mundry și A. Gierer la virusul mozaicului tutunului. În primul rînd trebuie arătat că acidul nitros este capabil să inducă modificări atît în macromolecula de A D N cît și în cea de A R N. Astfel s-a constatat, de pildă, că dacă se extrage A R N din virusul mozaicului tutunului și se tratează in vitro cu acid nitros, iar apoi se folosește pentru infectarea plantelor de tutun, se constată că aproximativ 50% din particulele de virus sînt inactivate, iar la restul apar numeroase mutante, care au o frecvență de aproximativ 20 de ori mai mare ca a mutațiilor naturale. În mod similar A D N extras din pneumococii sensibili la streptomicină și tratat cu acid nitros, în vitro, determină apariția unui număr important de mutante, direct proporțional cu timpul tratamentului după cum reiese din graficul alăturat. Efectul mutagen al acidului nitros a fost pus în evidență la bacterii virusuri, ciuperci etc.

Referitor la mecanismul său molecular de acțiune s-a constatat încă din 1958 de către H. Schuster și G. Schramm că *acidul nitros pro-*

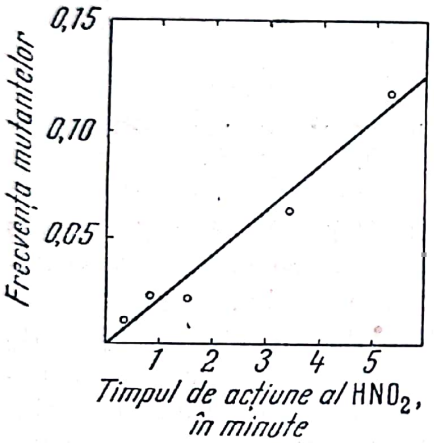
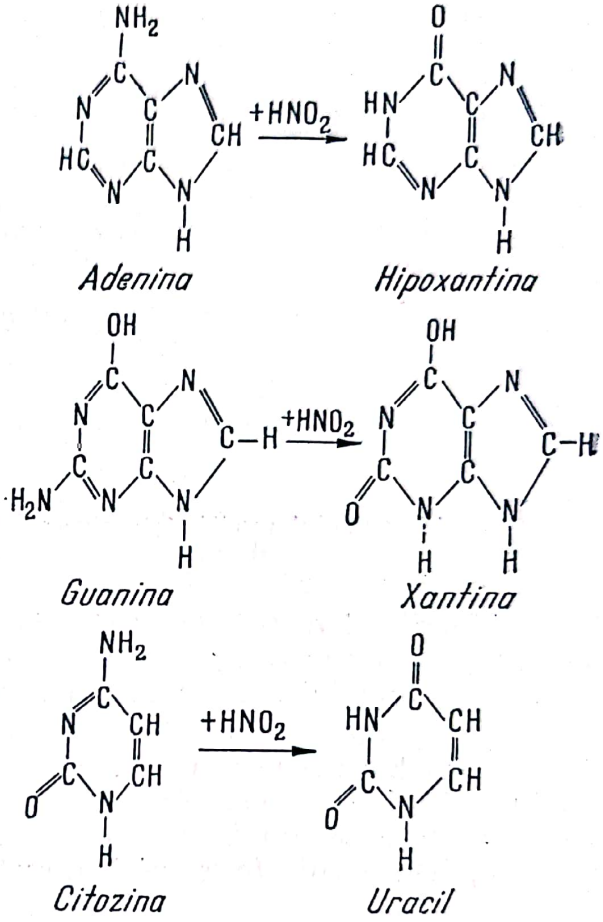



Fig. 194. Efectul mutagen al acidului nitros asupra pneumococilor.

Fig. 195. Dezaminarea unor baze azotate sub influența acidului nitros




*voacă dezaminarea unor baze azotate, transformînd astfel adenina în hipoxantină, citosina în uracil și guanina în xantină.*

Hipoxantina (H) are proprietăți similare guaninei (G) și de aceea ea se împerechează ușor cu citosina (C). În acest fel, perechea de nucleotide adenină (A) — timină (T) este înlocuită în procesul de replicație al A D N cu perechea de nucleotide G — C, fapt ce determină modificarea codului genetic.

În mod similar, prin transformarea citosinei în uracil (U), acesta avînd proprietăți similare timinei se împerechează cu adenina. Rezultatul este înlocuirea perechii de nucleotide G — C cu perechea A — T și apariția procesului mutațional.

Dezaminarea guaninei și transformarea sa în xantină nu este mutagenă, deoarece xantina fiind similară guaninei se împerechează tot cu citosina și ca urmare codul genetic nu se modifică. Unele cercetări par să indice că transformarea guaninei în xantină este corelată cu inactivarea materialului genetic.

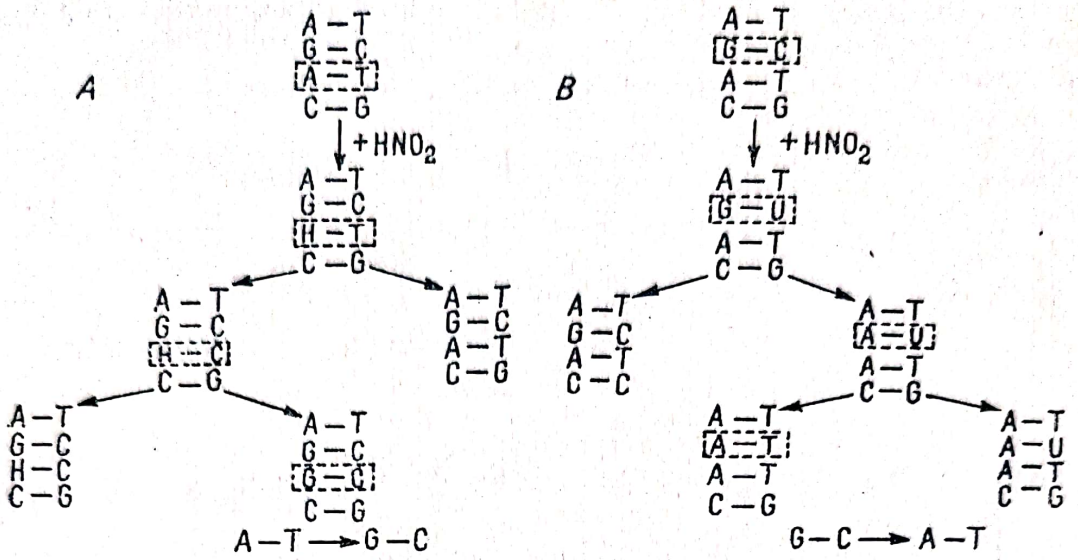



Fig. 196. Mecanismul modificării macromoleculei de A D N sub influența acidului nitros (după Levine, 1962).

*Hidroxilamina* ($NH_2OH$) și *hidrazina* ($H_2N\text{-}NH_2$). Acești factori mutageni au o constituție chimică asemănătoare și reacționează ambii cu bazele pirimidinice din macromolecula acizilor nucleici.

Efectul mutagen al hidroxilaminei a fost descoperit în 1959 de către H. Schuster și R. M. Franklin la virusul mozaicului tutunului, ulterior acțiunea mutagenă a acestei substanțe fiind dovedită asupra bacteriofagului T 4 și chiar asupra unor mamifere, cum este, de pildă, hamsterul. În special cercetările lui E. Freese (1963) au

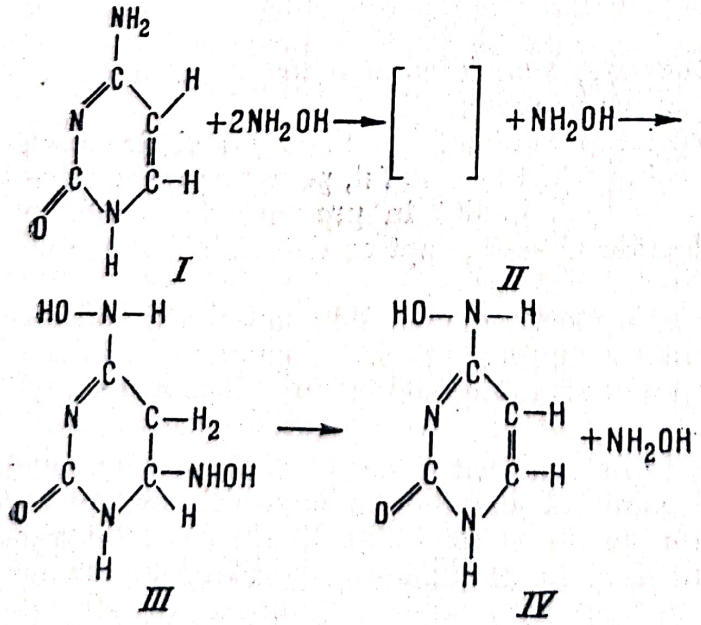



Fig. 197. Influența hidroxilaminei asupra citozinei pe care o transformă într-un analog al uracilului.

pus în evidență că hidroxilamina reacționează cu bazele azotate pirimidinice și în special cu citosina, pe care o transformă într-un compus analog uracilului care în procesul de replicație a A D N se va uni cu adenina. Ca urmare, perechea de nucleotide C — G este înlocuită cu perechea T — A și codul genetic apare modificat.

Hidrazina are un efect mutagen mult mai redus decît hidroxilamina, iar în ceea ce privește mecanismul său de acțiune s-a constatat că ea reacționează mai ales cu timina. Prin acțiunea sa asupra bazelor pirimidinice din macromolecula acizilor nucleici, se formează lanțuri polinucleotidice apirimidinice.

*Coloranții.* După cum arată E. Freese (1953), coloranții folosiți în citologie pentru punerea în evidență a acizilor nucleici, deși sînt diferiți din punct de vedere chimic, au însă cu toții efect mutagen. De altfel trebuie arătat că din punct de vedere chimic, structura coloranților folosiți mai frecvent în experiențele biologice, cum sînt proflavina, acridina oranj, albastru de metilen, albastru de toluidină este asemănătoare cu cea a unor substanțe aromatice cancerigene. Efectul mutagen al unor coloranți a fost pus în evidență la virusuri, bacterii și plante superioare. După datele lui A. Orgel și S. Brenner (1961), cantitatea optimă de colorant capabilă să inducă mutații la bacterii variază în limite foarte mari, fiind de : 1,6 — 2 μg/ml pentru acridina galbenă, 4 — 6 μg/ml pentru proflavină, 8 μg/ml pentru 2— 5 diaminoacridină și 6-aminoacridină, 16 μg/ml pentru 2-aminoacridină, 20 μg/ml pentru acridina oranj, 80 μg/ml pentru acridina simplă, 3 — aminoacridină și 2-7 diaminoacridină și 150 μg/ml pentru 1 — aminoacridină.

Mecanismul molecular de acțiune al coloranților asupra acizilor nucleici nu este bine cunoscut. După unele cercetări, coloranții din grupa acridinelor acționează asupra radicalului fosfat, determinînd o creștere a viscozității A D N și o inserție a moleculelor acridinice perpendicular

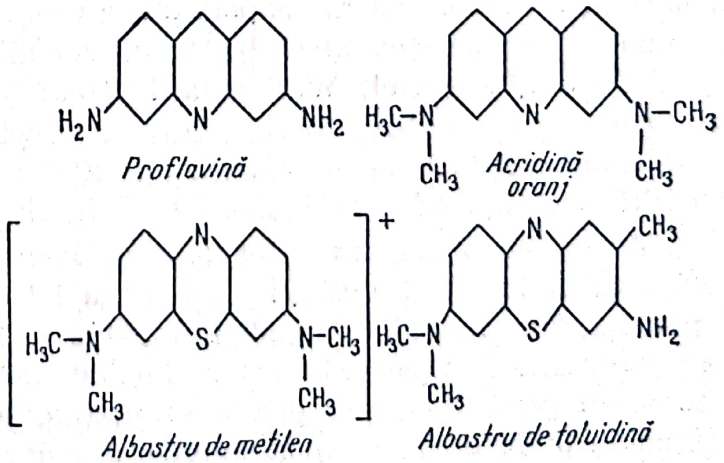



Fig. 198. Structura chimică a cîtorva coloranți cu efect mutagen.

pe lungimea macromoleculei de A D N între perechi succesive de nucleotide. Prin procesul de replicaţie al macromoleculei de A D N devine astfel posibilă deleţia sau inserţia unei perechi de nucleotide, fapt care duce la modificarea informaţiei ereditare şi la apariţia mutaţiei.

*pH-ul cu valori scăzute.* La *p*H cuprins între 1,6 şi 4,2 acidul dezoxiribonucleic îşi schimbă sarcinile electrice, devenind pozitiv, fenomen care are importante consecinţe asupra procesului de replicaţie. Astfel s-a constatat că *p*H-ul scăzut determină depurinizarea A D N, mai întîi fiind eliminate moleculele de guanină şi apoi cele de adenină. Ca urmare se poate produce fenomenul de deleţie al unor baze azotate şi înlocuirea lor cu alte baze sau, în cazul pierderii unui număr mare de baze azotate, blocarea replicaţiei care poate avea efect letal. De asemenea, valorile scăzute de *p*H pot determina ruperea legăturilor între moleculele de zahar şi grupările fosforice, ceea ce are drept consecinţă fragmentarea macromoleculei de A D N. Fenomenul apariţiei mutaţiilor sub influenţa unui *p*H scăzut a fost pus prima oară în evidenţă de către E. Freese (1959) la bacteriofagul T 4.

Mecanismul molecular de acţiune al unor substanţe chimice mutagene este însă în bună măsură necunoscut. De pildă, *clorura de mangan* s-a dovedit a fi agent mutagen la bacterii, însă nu se cunoaşte modul său de acţiune. La fel s-a dovedit că *4-nitrochinoleina 1 — N — oxid* are activitate mutagenă la bacterii şi virusuri, *apa oxigenată* ($H_2O_2$) induce mutaţii la unele ciuperci, *apa grea* ($D_2O$) măreşte frecvenţa mutaţiilor la *Drosophila melanogaster* şi unele virusuri etc.

## SPECIFICITATEA DE ACŢIUNE A FACTORILOR MUTAGENI

Cercetări comparative efectuate la ciuperci, bacterii, virusuri, precum şi la unele organisme superioare au pus în evidenţă deosebiri însemnate în capacitatea unor factori mutageni de a induce un anumit tip de mutaţii. Astfel, Westergaard (1957, 1960) a studiat efectul mutagen al unor substanţe chimice şi radiaţii asupra ciupercii *Neurospora,* în special în ceea ce priveşte apariţia unor mutaţii biochimice care necesită prezenţa adeninei$^+$ şi respectiv inosinei$^+$ în mediul de cultură.

Aceste cercetări arată foarte concludent că în timp ce etilmetan sulfonatul induce 11,3 mutaţii inosină$^+$ la $10^6$ conidii, brometilmetan sulfonatul induce numai 0,04, adică aproape de nivelul frecvenţei mutaţiilor spontane. Dimpotrivă, brometilmetan sulfonatul are o mare capacitate mutagenă în ceea ce priveşte mutaţiile adenină$^+$ (152,0), în timp ce etilmetan sulfonatul are o capacitate mutagenă redusă (17,4). Se poate

| Factori mutageni | Numărul de mutații la $10^6$ conidii | | Raportul adenină+/inosină+ |
|---|---|---|---|
| | inosină+ | adenină+ | |
| etilmetan sulfonat | 11,3 | 17,4 | 1,5 |
| dietilsulfat | 4,3 | 16,8 | 3,9 |
| dimetilsulfat | 3,4 | 64,0 | 19,0 |
| cloretilmetan sulfonat | 0,3 | 51,0 | 190,0 |
| dipropil sulfat | 0,2 | 13,6 | 68,0 |
| diepoxibutan | 0,2 | 89,0 | 445,0 |
| brometilmetan sulfonat | 0,04 | 152,0 | 3 800,0 |
| radiații ultraviolete | 7,1 | 3,5 | 0,5 |
| radiații Roentgen ($10^5$r) | 0,2 | 3,2 | 16,0 |
| mutații spontane | 0,02 | 0,2 | 10,0 |

trage astfel concluzia existenței unei specificități de acțiune a factorilor mutageni asupra organismelor.

Un fenomen similar a fost constatat și în ceea ce privește mutațiile de reversie. Cercetările lui E. Freese (1961) au arătat că factorii mutageni au o capacitate variată de a induce mutațiile de reversie. Astfel prin tratarea cu 2-aminopurină și 5-bromuracil a diferitelor mutante ale bacteriofagului T 4, mutante induse cu diferiți agenți mutageni, s-au obținut mutante de reversie în proporție de 2 — 98%, în timp ce numărul de mutații de reversie spontane reprezenta 14%. Ținînd seama că mecanismul molecular de apariție al mutațiilor este numai parțial cunoscut, este greu de explicat cauza specificității de acțiune a agenților mutageni.

În sfîrșit trebuie menționate cercetările care au arătat că prin combinarea acțiunii unor agenți mutageni este posibilă intensificarea și res-

| Agenți mutageni ce induc mutații r II la bacteriofagul T 4 | Numărul de mutații studiate | Mutante % | | Mutante de reversie, în % apărute spontan în mutațiile naturale |
|---|---|---|---|---|
| | | Capabile de reversie prin tratarea cu 2-AP sau 5-BU | Incapabile de reversie prin tratarea cu 2-AP sau 5-BU | |
| 2 — aminopurină (2-AP) | 98 | 98 | 2 | 2 |
| 5 — bromuracil (5-Bu) | 64 | 95 | 5 | 2 |
| hidroxilamină | 36 | 94 | 6 | 4 |
| acid azotos | 47 | 87 | 13 | 15 |
| etiletan sulfonat | 47 | 70 | 30 | 10 |
| proflavină | 55 | 2 | 98 | — |
| *p*H 5, 45° | 115 | 77 | 23 | 15 |
| mutații spontane | 110 | 14 | 86 | — |

pectiv diminuarea efectului mutagen. De exemplu studiile citate de N. P. Dubinin (1963) la ciupercile producătoare ale antibioticului eritromicina au dus la rezultate interesante, prezentate în tabelul următor, care au importanță pentru selecția de tulpini cu productivitate mărită de antibiotice. Astfel combinarea etileniminei cu radiațiile ultra-

| Agenți mutageni | Nr. de colonii studiate | Nr. de colonii cu producție mărită | % de colonii cu producție mărită |
|---|---|---|---|
| martor (condiții naturale) | 200 | 0 | 0 |
| radiații ultraviolete (U V) | 200 | 1 | 0,5 |
| etilenimină | 485 | 1 | 0,2 |
| U V, apoi etilenimină | 690 | 5 | 0,7 |
| etilenimină, apoi U V | 526 | 9 | 1,7 |
| radiații Roentgen (X) | 290 | 3 | 1,0 |
| X, apoi etilenimină | 1 235 | 2 | 0,16 |
| etilenimină, apoi X | 793 | 6 | 0,7 |

violete mărește frecvența mutațiilor utile cu producție mărită de antibiotic, în timp ce combinarea etileniminei cu radiațiile roentgen micșorează procentul mutațiilor utile. *Pe această bază devine posibilă dirijarea parțială a procesului mutagen și obținerea de substanțe „protectoare" față de anumiți factori mutageni,* fenomen care are mare importanță practică.

Rezultatele obținute pînă în prezent constituie, fără îndoială, un pas important înainte nu numai în cunoașterea mecanismului molecular de apariție a mutațiilor, dar și o contribuție la posibilitatea dirijării procesului mutațional. În această direcție, o importanță deosebită o prezintă specificitatea mecanismului de acțiune la nivel molecular în cazul diferiților factori mutageni.

## PROCESUL MUTAȚIONAL ȘI CODUL GENETIC

Cercetările noi de genetică moleculară au dovedit că factorii mutageni fizici și chimici acționează în primul rînd asupra acizilor nucleici, fapt care prezintă importanță pentru fenomenul ereditar. S-a demonstrat deja în unele cazuri că sub influența factorilor mutageni au loc modificări în macromolecula de A D N și A R N, respectiv în codul genetic. Rezultatul firesc îl constituie apariția de mutante care au nu

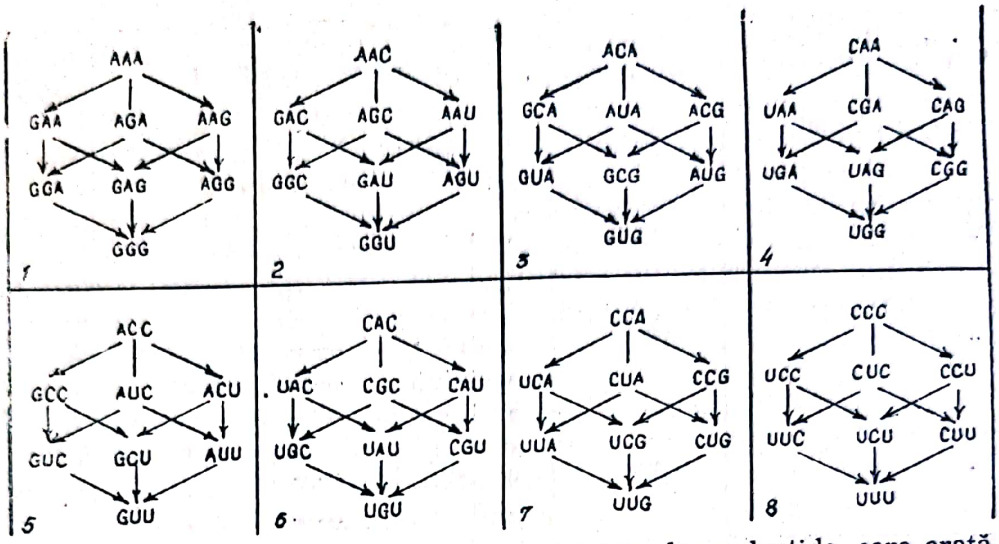



Fig. 199. Cele 8 octete cuprinzînd 64 de triplete de nucleotide, care arată toate modificările posibile ale bazelor azotate din A R N sub influența acidului nitros (după Wittman, 1961).

numai acizi nucleici cu structură modificată, dar și procesul de biosinteză proteică schimbat.

A. T s u g i t a și H. F r a e n k e l-C o n r a t (1963) au studiat influența a diferiți agenți mutageni chimici asupra virusului mozaicului tutunului (V M T) și au urmărit efectul mutagen la nivelul proteinelor. În acest scop, ei au extras A R N din V M T și l-au tratat „in vitro" cu diverși agenți mutageni, iar apoi au refăcut virusul prin recombinarea sa cu proteina respectivă. Efectuarea de infecții artificiale cu V M T tratat după metoda arătată a dus la apariția unui număr de 56 mutații, din care însă numai 27, adică aproximativ 50%, prezentau modificări ale secvenței aminoacizilor, după cum reiese din tabelul următor :

| Agenții mutageni | Numărul mutantei | Aminoacizii modificați | Numărul peptidei modificate |
|---|---|---|---|
| $HNO_2$ (acid nitros) | 273 | asparagină * → serină | — |
| „ | 282 | asparagină * → alanină<br>treonină → serină | —<br>— |
| „ | 171 | prolină → leucină<br>asparagină * → alanină<br>treonină → serină | 156<br>—<br>— |
| „ | 362 | prolină → leucină | — |
| „ | 220 | serină → fenilalanină | 138 |

| Agenţii mutageni | Numărul mutantei | Aminoacizii modificaţi | Numărul peptidei modificate |
|---|---|---|---|
| $HNO_2$ (acid nitros) | 329 | serină → fenilalanină<br>serină → fenilalanină | 138<br>— |
| ,, | 237 | arginină → glicocol<br>arginină → glicocol | 61<br>134 |
| ,, | 321 B | arginină → glicocol<br>arginină → glicolol<br>arginină → glicocol | 61<br>122<br>134 |
| ,, | 284 | glutamină → glicocol<br>arginină → lisină | 97<br>— |
| ,, | 328 | 16 aminoacizi modificaţi | — |
| ,, | 262 | 16 aminoacizi modificaţi | — |
| N — bromsuccinimid | 218 | prolină → leucină | — |
| ,, | 233 | prolină → leucină | — |
| ,, | 207 | prolină → leucină | — |
| ,, | 235 | prolină → leucină | — |
| ,, | 187 | arginină → glicocol<br>asparagină → serină | 46<br>— |
| ,, | 326 | asparagină * → serină<br>asparagină * → serină<br>asparagină * → serină | —<br>—<br>— |
| ,, | 330 | izoleucină → treonină | — |
| ,, | 223 | 17 aminoacizi modificaţi | — |
| ,, | 206 | 17 aminoacizi modificaţi | — |
| dimetil sulfonat | 331 | 7 aminoacizi modificaţi | — |
| ,, | 214 | prolină → leucină | — |
| ,, | 278 | prolină → leucină | — |
| ,, | 176 | prolină → leucină | — |
| ,, | 215 | serină → fenilalanină | 138 |
| ,, | 178 | arginină → glicocol | — |
| ,, | 249 | 16 aminoacizi modificaţi | — |

*) Asparagină sau acid asparagic.

Scanned with OKEN Scanner

S-a dovedit, de asemenea, în urma acestor cercetări că este posibilă existența unor mutații care nu afectează aminoacizii proteinei și ca urmare nu se deosebesc din acest punct de vedere de V M T normal. Ținînd seama că proteina V M T are 158 aminoacizi, înseamnă că pentru codificarea sa genetică pe bază de codoni sînt necesare 474 nucleotide (158 × 3), ceea ce reprezintă numai 7,4% din numărul total de 6 400 nucleotide. Aceasta înseamnă că majoritatea cantității de A R N din V M T poartă informații ereditare nelegate direct de proteina din V M T.

În ceea ce privește mutațiile V M T induse cu ajutorul acidului azotos, N — bromsuccinimidei și dimetil sulfonatului, s-a constatat că ele afectează în majoritate numai 1—3 aminoacizi din proteina V M T, restul rămînînd neschimbate. De asemenea, s-a constatat că reacțiile provocate la nivelul proteinei de trei grupe de agenți mutageni prin dezaminare, alkilare și metilare sînt asemănătoare. De pildă, la o mutantă obținută prin dezaminare, patru mutante obținute prin alkilare și trei mutante obținute prin metilare s-a remarcat schimbarea prolinei în leucină.

Continuînd aceste cercetări, H. F r a e n k e l-C o n r a t (1964) a studiat aproximativ 200 mutante ale V M T induse cu agenți mutageni chimici, constatînd că la 120 nu apar modificări ale aminoacizilor din proteină, iar la 80 mutante apar 1—2 și în cazuri mai rare 3 modificări de aminoacizi, care însă sînt similare, indiferent de tipul agentului mutagen. Cele mai importante modificări ale aminoacizilor sînt prezentate în tabelul de mai jos (modificat de autor) împreună cu schimbările posibile ale mesajului genetic conținut în A R N-m.

| Aminoacizii modificați | | Dezaminare | Atașarea unui atom de Br | Metilare | Schimbările posibile ale tripletelor din A R N-m |
|---|---|---|---|---|---|
| asparagină | ↗ glutamină | 2 | — | — | G A C→G A A |
| | ↘ alanină | 4 | — | — | G A U→G C U |
| asparagină | →serină | 6 | 3 | — | G A C→ A G C |
| treonină | ↗ alanină | 2 | — | — | A C A→G C A |
| | →izoleucină | 8 | — | — | A C U→A U U |
| | ↘ metionină | 3 | — | — | A C G→A U G |
| serină | ↗ fenilalanină | 8 | 2 | 2 | A G U→U U U |
| | →glutamină | — | 1 | — | — — — |
| | ↘ leucină | 2 | — | — | — — — |

| Aminoacizii modificați | | Deza-minare | Atașarea unui atom de Br | Metilare | Schimbările posibile ale tripletelor din A R N-m |
|---|---|---|---|---|---|
| glutamină | →glicocol | 2 | — | — | G A G→G G G |
| glutamină N $H_2$ | →arginină | 1 | — | — | C A A→C G A |
| | ↘valină | 2 | — | — | — — — |
| prolină | ↗leucină | 4 | 4 | 4 | C C U→C U U |
| | ↘serină | 3 | — | — | — — — |
| valină | →metionină | 1 | — | — | G U G→A U G |
| izoleucină | ↗valină | 5 | — | — | A U U→G U U |
| | →treonină | — | 1 | — | A U U→A C U |
| | ↘metionină | 1 | — | — | A U U→A U G |
| leucină | →fenilalanină | 1 | — | — | C U U→U U U |
| arginină | ↗glicocol | 3 | 3 | 1 | C G A→G G A |
| | ↘lizină | 1 | 1 | — | — |

Cercetările privind mecanismul molecular al procesului mutagen au arătat astfel că factorii mutageni acționează de obicei la nivelul acizilor nucleici, fenomen ce are consecințe genetice importante. Modul de acțiune al agenților mutageni asupra acizilor nucleici este foarte variat, ei provocînd diferite modificări, ca : înlocuirea unei nucleotide cu alta, adiția sau deleția unei nucleotide, rupturi sau chiar depolimerizări ale unor macromolecule etc. O parte din aceste modificări se stabilizează în procesul replicației acizilor nucleici, fapt ce determină modificări structurale în macromoleculele de A D N și A R N. Ca urmare apar modificări ale codului genetic și respectiv ale procesului de biosinteză a proteinelor. Se pare deci că *mutațiile au un mecanism molecular similar de apariție ce constă în modificarea informației genetice înscrise biochimic în macromoleculele de acizi nucleici.*

CAPITOLUL XVII

# GENETICA ŞI EVOLUŢIA

Secolul al XIX-lea a însemnat un mare pas înainte în studiul naturii vii, de numele lui J. B. Lamark şi mai ales de al lui Ch. Darwin fiind legată punerea bazelor ştiinţifice ale biologiei. *Evoluţionismul* a constituit piatra de hotar între biologia empirică şi cea *ştiinţifică*, el marcînd începutul unei perioade de fecunde cercetări, care au dus la apariţia unor ramuri noi şi au permis pătrunderea mai adînc în studiul materiei vii. Uriaşa însemnătate a operei lui Ch. Darwin iese astăzi şi mai bine în evidenţă cînd o privim prin prizma unui secol care a trecut de atunci, ideile evoluţioniste dominînd spiritele oamenilor într-o măsură din ce în ce mai mare.

Teoria darvinistă, apărută la mijlocul secolului trecut, a pus în evidenţă factorii evoluţiei şi în special selecţia naturală, în cadrul unei concepţii închegate care arată cum variaţiile individuale determinate se transmit la descendenţi şi pot deveni variaţii specifice. Cu toate acestea, teoria darvinistă a evoluţiei, limitată de nivelul cunoştinţelor ştiinţifice din biologia din secolul trecut, nu a dat şi nu putea da răspuns la întrebarea care sînt cauzele variaţiilor individuale şi căile prin care se realizează astfel evoluţia. Această limitare istorică a teoriei lui Darwin a fost sesizată de Fr. Engels în „Anti-Dühring", care scria : „...Darwin, vorbind de selecţia naturală, face abstracţie de *cauzele* care au provocat schimbări la indivizii izolaţi şi tratează în primul rînd modul în care aceste abateri individuale devin încetul cu încetul caracteristicile unei rase, ale unei varietăţi sau ale unei specii. Pe Darwin îl interesează pentru început mai puţin găsirea acestor cauze — care pînă acum sînt în parte complet necunoscute, în parte cunoscute numai în linii cu totul generale — decît îl interesează găsirea unei forme raţionale în care rezultatele lor devin stabile şi capătă o semnificaţie durabilă.*

---

* F. Engels, Anti-Dühring, Ed. de Stat pentru literatură politică, 1955, p. 82.

Apariţia geneticii ca ştiinţă la sfîrşitul secolului al XIX-lea şi începutul secolului al XX-lea a permis aprofundarea cercetărilor privind ereditatea la nivelul populaţiilor, indivizilor, celulelor şi biomoleculelor, făcînd astfel posibilă descoperirea unor cauze care determină variaţia ereditară şi pe această bază s-au făcut progrese mari în studiul mecanismului intern al evoluţiei.

## GENETICA POPULAŢIILOR

Folosirea metodelor matematice în studiul eredităţii la nivelul populaţiilor a determinat apariţia unui domeniu nou al biologiei, şi anume *genetica populaţiilor. În genetică, prin populaţie se înţelege totalitatea indivizilor dintr-o anumită specie care sînt legaţi între ei prin faptul că se pot încrucişa sexuat, care au ascendenţi şi descendenţi comuni.* Unii autori consideră că organismele care se reproduc asexuat, precum şi cele strict autogame nu formează populaţii.

### LEGEA HARDY-WEINBERG

Bazele geneticii populaţiilor au fost puse în 1908 de matematicianul G. H. Hardy în Anglia şi de medicul W. Weinberg în Germania, care au studiat independent frecvenţa genelor la nivelul populaţiilor. Ei au elaborat legea *Hardy-Weinberg,* care poate fi enunţată astfel : *într-o populaţie în care indivizii se pot încrucişa sexuat între ei pe bază de probabilitate, frecvenţa genelor se menţine constantă de-a lungul generaţiilor, iar populaţia este în echilibru, indiferent de proporţia caracterelor dominante şi recesive. În cazul unei perechi de gene alele A a, frecvenţa genelor este egală cu pătratul binomului* $(p+q)^2$, *fiind* $p^2\ AA + 2pq\ Aa + q^2\ aa$. *Sub influenţa unor factori externi şi interni, frecvenţa genelor într-o populaţie poate fi modificată,* fapt care duce la stabilirea în timp a unui nou echilibru şi respectiv determină evoluţia populaţiei respective. Evident, legea Hardy-Weinberg se referă la un caz teoretic, ideal, care nu se întîlneşte identic în condiţii naturale.

De pildă, în cazul unei populaţii în care există un număr egal de indivizi homozigoţi cu caractere dominante (A A) şi recesive (a a) care se pot încrucişa între ei, se pot realiza pe bază de probabilitate următoarele tipuri de încrucişări :

$$AA \times AA$$
$$AA \times aa$$
$$aa \times aa$$

Analizînd repartiția diferitelor tipuri de indivizi în prima generație ($F_1$), se poate observa că ea este următoarea :

| ♀ \ ♂ | *AA* 50% | *aa* 50% |
|---|---|---|
| *AA* 50% | *AA* 25% | *Aa* 25% |
| *aa* 25% | *Aa* 25% | *aa* 25% |

Aceasta înseamnă că în $F_1$ din punct de vedere fenotipic 75% dintre indivizi prezintă caracterul dominant *A* și 25% pe cel recesiv *a*, segregarea fiind în raport de 3 : 1.

Dacă se consideră că organismele din $F_1$ vor da naștere la un număr egal de gameți (care conțin evident numai gena *A* sau *a*), atunci frecvența genelor va fi următoarea :

| Indivizi $F_1$ | Gameți |
|---|---|
| *A A* 25% | *A* 25% |
| *A a* 50% | *A* 25% + *a* 25% |
| *a a* 25% | *a* 25% |
| Total : | *A* 50% + *a* 50% |

Prin combinarea acestor gameți se obține în $F_2$ o segregare mendeliană de 25% *A A* + 50% *A a* + 25% *a a*, adică o frecvență a genotipurilor identică cu cea din $F_1$. În ceea ce privește fenotipurile, ele sînt, de asemenea, identice cu cele din $F_1$, adică 75% *A* și 25% *a*, segregarea fiind în raport de 3 : 1.

Cazul în care într-o populație frecvența genelor alele este egală, este foarte rar. De obicei această frecvență este diferită pentru gena dominantă și pentru cea recesivă corespunzătoare. Astfel dacă considerăm

Scanned with OKEN Scanner

o populație formată din 80% indivizi $A\,A$ (adică probabilitate 0,8) și 20% $a\,a$ (adică probabilitate 0,2), din încrucișarea lor pe bază de probabilitate se obține următoarea repartiție a indivizilor în $F_1$ :

| ♀ \ ♂ | $A\ A$ 80% | $a\ a$ 20% |
|---|---|---|
| $A\ A$ 80% | $A\ A$ 64% | $A\ a$ 16% |
| $a\ a$ 20% | $A\ a$ 16% | $a\ a$ 4% |

Aceasta înseamnă că 96% din indivizi vor avea fenotipul *A*, însă numai 64% vor fi homozigoți, iar 32% vor fi heterozigoți. Caracterul recesiv *a* va fi întîlnit numai la 4% dintre indivizi. Dacă se urmărește repartizarea genelor în această generație se constată că ea este următoarea :

| Indivizi | Gameți |
|---|---|
| $A\ A$ 64% | $A$ 64% |
| $A\ a$ 32% | $A$ 16% + $a$ 16% |
| $a\ a$ 4% | $a$ 4% |
| Total : | $A$ 80% + $a$ 20% |

Aceasta înseamnă că în generația respectivă frecvența genei *A* este 80%, iar cea a genei *a* este 20%. În generațiile următoare se va observa același fenomen, adică gena *A* va avea frecvența 80%, iar gena *a* frecvența 20%. În ceea ce privește fenotipurile, segregarea se va face în raport de 96% *A* și 4% *a*.

Rezultatele studiului populațiilor efectuate de G. A. Hardy și W. Weinberg pot fi generalizate matematic astfel : dacă frecvența gemeților *A* este q, iar a gameților *a* este p, distribuția fenotipurilor în descendență este următoarea :

| ♀ \ ♂ | $A$<br>q | $a$<br>p |
|---|---|---|
| $A$<br>q | $A\,A$<br>$q^2$ | $A\,a$<br>$qp$ |
| $a$<br>p | $Aa$<br>$qp$ | $a\,a$<br>$p^2$ |

adică $q^2\,A\,A + 2\,q\,p\,A\,a + p^2\,a\,a$. După cum se poate ușor observa este vorba de o distribuție binomială, adică $(q + p)^2 = q^2 + 2pq + p^2$. Dar ținînd seama că $p + q = 1$, aceasta înseamnă că $p = 1 - q$. Ca urmare, simbolul p poate fi eliminat și formula privind distribuția genotipurilor devine : $q^2\,A\,A + 2\,q\,(1 - q)\,A\,a + (1 - q)^2\,a\,a$. Aceasta este reprezentarea matematică a legii Hardy-Weinberg, din care reiese că frecvența genotipurilor $A\,A$, $A\,a$ și $a\,a$ se păstrează constantă de-a lungul generațiilor. De asemenea, frecvența genelor $A$ și $a$ se păstrează constantă, fapt ce reiese foarte evident din formula de mai sus. Astfel, gena $A$ va avea următoarea frecvență :

$$A = q^2 \text{ (de la indivizii } AA) + q\,(1-q) \text{ (de la indivizii } Aa) = q^2 + q - q^2 = q$$

$$a = (1-q)^2 \text{ (de la indivizii } aa) + q\,(1-q) \text{ (de la indivizii } Aa) = 1 + q^2 - 2q + q - q^2 = 1 - q$$

După cum se știe însă, frecvența gameților purtători ai genei $A$ sau $a$ este foarte dificil de determinat direct. În schimb există posibilitatea mult mai ușoară de a determina frecvența fenotipurilor. Astfel, conform legii Hardy-Weinberg, fenotipurile din descendență au următoarea frecvență :

$$AA = q^2$$
$$aa = (1 - q)^2$$
$$2\,Aa = 2\,q\,(1 - q)$$

Dacă ne referim la exemplul anterior în care frecvența genei $A$ este 80%, iar a genei $a$ este 20%, aceasta înseamnă că în descendență fenotipurile vor fi repartizate astfel :

$$AA = q^2 = 0{,}80^2 = 0{,}64 = 64\%$$
$$aa = (1 - q)^2 = 0{,}20^2 = 0{,}04 = 4\%$$
$$2\,Aa = 2\,q\,(1 - q) = 2 \times 0{,}8 \times 0{,}2 = 0{,}32 = 32\%$$

Scanned with OKEN Scanner

Invers dacă se ştie că într-o populaţie frecvenţa fenotipului *A* este 96% şi cea a lui *a* este 4%, se poate calcula frecvenţa genei dominante şi a celei recesive, astfel :

$$aa = (1 - q)^2 = 0{,}04 = 4\%$$
$$a = \sqrt{0{,}04} = 0{,}2 = 20\ \%$$
$$A = q = 100 - 20 = 80\ \%$$

De asemenea, se poate calcula cîţi dintre indivizii cu fenotipul dominant *A* sînt homozigoţi *(A A)* sau heterozigoţi *(A a)* :

$$A\ A = q^2 = 0{,}8 \times 0{,}8 = 0{,}64 = 64\%$$
$$A\ a = 2\,q\ (1=q) = 2 \times 0{,}8 \times 0{,}2 = 0{,}32 = 32\%$$

Calculînd cazurile în care gena recesivă *a* are o frecvenţă diferită, se obţine următoarea incidenţă a heterozigoţilor *(A a)* şi homozigoţilor *(a a)* de-a lungul generaţiilor :

| Frecvenţa genei *a* q | Incidenţa heterozigoţilor *A a* 2 p q | Incidenţa homozigoţilor *a a* $q^2$ | Raportul heterozigoţi/homozigoţi 2 p q : $q^2$ |
|---|---|---|---|
| 0,5 | 0,5 | 0,25 | 2 : 1 |
| 0,2 | 0,32 | 0,04 | 8 : 1 |
| 0,1 | 0,18 | 0,01 | 18 : 1 |
| 0,01 | 0,0198 | 0,0001 | 198 : 1 |
| 0,001 | 0,001998 | 0,000001 | 1998 : 1 |
| 0,0001 | 0,0001998 | 0,00000001 | 19998 : 1 |

## FRECVENŢA GENELOR ÎN CAZUL GRUPELOR DE SÎNGE UMAN

Un exemplu foarte interesant de studiu al frecvenţei genelor îl constituie grupele de sînge în populaţia umană. După cum este cunoscut, dacă se ia sînge uman, sau numai globule roşii din sîngele uman, şi se injectează într-un iepure sau alt animal potrivit, acesta reacţionează

producînd anticorpi pentru a proteja animalul de prezenţa materialului străin. Dacă se ia apoi serul din sîngele animalului imunizat şi se pune în contact pe o lamă cu cîteva picături de sînge uman se observă imediat că se produce aglutinarea eritrocitelor sîngelui. S-a constatat că serul nu are acţiunea aglutinantă selectivă, în sensul că el este capabil să determine aglutinarea sîngelui de la indiferent care persoană. Există însă o tehnică de *absorbţia anticorpilor* prin care este posibilă fracţionarea serului, astfel ca el să reacţioneze selectiv la sîngele uman. În acest scop, serul în care există anticorpi de două tipuri, anti — M şi anti — N, se pune în contact într-o eprubetă cu globule roşii de la o persoană cu sînge din grupa M. Se observă imediat că are loc absorbţia anticorpilor M la suprafaţa globulelor roşii, care conţin antigene de tip M, astfel că prin centrifugare este posibilă îndepărtarea din serul animalului a anticorpilor M şi a globulelor roşii cu antigene M. Serul supernatant care conţine deci numai anticorpi N este capabil să determine aglutinarea exclusivă a globulelor roşii din sîngele persoanelor din grupa N. S-a reuşit astfel prepararea unui ser animal care reacţionează selectiv cu antigene N. În mod similar se poate prepara ser animal care reacţionează selectiv cu antigene M.

Folosindu-se aceste două tipuri de ser animal cu anti — M şi anti — N, s-a reuşit identificarea a trei grupe de sînge uman.

| Grupa de sînge | Reacţia cu ser anti—M | Reacţia cu ser anti—N |
|---|---|---|
| M | + | — |
| N | — | + |
| M N | + | + |

Aceste cercetări interpretate genetic duc la concluzia că prezenţa antigenelor M în sîngele uman este determinată de gena $M^M$, iar prezenţa antigenelor N este determinată de gena alelă $M^N$. La aceste gene alele nu se manifestă fenomenul dominanţei, deoarece organismele heterozigote reacţionează identic cu ambele tipuri de ser (anti — M şi anti — N), astfel că genetic ele sînt *codominante* şi au constituţia $M^M M^N$.

Din căsătoria între două persoane aparţinînd grupei de sînge M se obţin descendenţi exclusiv M, iar din căsătoria dintre două persoane aparţinînd grupei N apar descendenţi din aceeaşi grupă. Din căsătoria între indivizi aparţinînd grupei M cu M N se obţin statistic 50% descen-

denţi M şi 50% descendenţi M N. În termeni genetici astfel de căsătorii pot fi exprimate astfel :

$$M^M M^M \times M^M M^N \longrightarrow 50\ \%\ M^M M^M + 50\ \%\ M^M M^N$$

O segregare similară se observă în cazul căsătoriei dintre două persoane N × M N, descendenţa fiind $50\%\ M^N M^N + 50\%\ M^M M_N$

În cazul căsătoriei între două persoane heterozigote se realizează o segregare a descendenţei astfel :

$$M^M M^N \times M^M M^N \longrightarrow 1 M^M M^M + 2 M^M M^N + 1 M^N M^N$$

Studiul grupelor de sînge prezintă importanţă nu numai pentru stabilirea legală a paternităţii, ci dă indicaţii interesante privind frecvenţa genelor respective în cazul a diferite populaţii umane.

Astfel, folosirea tehnicii descrise mai sus de studiu a grupelor de sînge uman la un număr de 208 oameni dintr-un trib de beduini din deşertul sirian a arătat că ei se împart astfel :

$$119\ \mathrm{M} + 76\ \mathrm{M\,N} + 13\ \mathrm{N}$$

Se poate cu uşurinţă observa că frecvenţa genelor $M^M$ şi $M^N$ este diferită. Astfel numărul total de gene este $208 \times 2 = 416$, din care :

$$M^M = (119 \times 2) + 76 = 314$$

$$M^N = (13 \times 2) + 76 = 102$$

Frecvenţa genei $M^M = \frac{314}{416} = 0{,}75$, iar frecvenţa genei $M^N = \frac{102}{416} = 0{,}25$.

Studiul pe bază de probabilitate al apariţiei diferitelor genotipuri, conform legii Hardy-Weinberg, arată că ele ar trebui să se repartizeze astfel :

$$M^M M^M = q^2 = 0{,}75 \times 0{,}75 = 0{,}56, \text{ adică } 56\%$$
$$2\ M^M M^N = 2q\,(1 - q) = 2 \times 0{,}75 \times 0{,}25 = 0{,}38, \text{ adică } 38\%$$
$$M^N M^N = (1 - q)^2 = 0{,}25 \times 0{,}25 = 0{,}06, \text{ adică } 6\%$$

Repartizînd cei 208 indivizi în cele trei grupe calculate statistic, se obţin următoarele cifre :

$$0{,}56 \times 208 = 117\ M$$
$$0{,}38 \times 208 = 79\ M\,N$$
$$0{,}06 \times 208 = 12\ N$$

După cum se observă, aceste cifre sînt foarte apropiate de cele obţinute în realitate (119 M + 76 M N + 13 N).

Rezultate care confirmă legea Hardy-Weinberg s-au obținut și în cazul studiului grupelor de sînge la alte populații, după cum se poate remarca din tabelul următor (după A. Srb și R. D. Owen, 1952).

| Populații | Numărul de persoane testate | Fenotipuri observate | | | Frecvența genelor | | Fenotipuri calculate | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | M | M N | N | $M^M$ (q) | $M^N$ (p) | M $(q)^2$ | M N (2 q p) | N $(p^2)$ |
| Indieni americani | 140 | 83 | 46 | 11 | 0,76 | 0,24 | 81 | 51 | 8 |
| Brooklyn (S.U.A.) | 1849 | 541 | 903 | 405 | 0,54 | 0,46 | 536 | 925 | 388 |
| Aborigeni australieni | 102 | 3 | 44 | 55 | 0,25 | 0,75 | 6 | 38 | 58 |

În toate aceste trei populații se poate constata, în primul rînd, că frecvența genelor alele $M^M$ și $M^N$ este foarte variabilă și, în al doilea rînd, că distribuția fenotipurilor observate este foarte apropiată de cea a fenotipurilor calculate în conformitate cu distribuția binomială stabilită de legea Hardy-Weinberg. De asemenea, s-a constatat că echilibrul privind frecvența genelor alele se păstrează la diferite generații datorită faptului că mariajele se efectuează pe bază de hazard între indivizi aparținînd celor trei grupe de sînge și că prezența genelor alele nu influențează fecunditatea și supraviețuirea descendenților.

## FRECVENȚA GENELOR LA SEXE DIFERITE

În cazul genelor plasate pe autozomi nu există deosebiri între sexe în ceea ce privește frecvența genelor. Dacă însă genele sînt plasate pe heterozomi, apar deosebiri între sexe atît în ceea ce privește frecvența genelor cît și a fenotipurilor.

Astfel, în cazul determinismului genetic al sexului de tip *Drosophila* — la care femela este homogametică (X X), iar masculul heterogametic (X Y) — dacă p este frecvența genei *A* și q frecvența genei *a*, distribuția genotipurilor este următoarea :

Femelele (X X) : $p^2\ A\ A + 2\ p\ q\ A\ a + q^2\ a\ a$
Masculii (X Y) : $p\ A + q\ a$

Aceasta înseamnă că toți masculii ce posedă gena recesivă *a* plasată pe cromozomul X prezintă fenotipul respectiv, în timp ce la femele numai cele homozigote o prezintă *(a a)* în timp ce cele heterozigote *(A a)*

nu o manifestă. Din datele de mai sus reiese că în cazul genelor recesive plasate pe cromozomul X femelele au frecvența genei *a* egală cu $q^2$, iar masculii cu q. Ca urmare, fenotipul recesiv la masculi este egal cu frecvența genei *a*, în timp ce la femele fenotipul recesiv apare mult mai rar, și anume egal cu pătratul genei *a*. De pildă, dacă daltonismul (o maladie ereditară provocată de o genă plasată pe cromozomul X) are la bărbați frecvența de 1/10, la femei frecvența acestei maladii este de $1/10^2$, adică 1/100.

## FRECVENȚA GENELOR ÎN CAZUL POLIALELIEI

Dacă se ia în considerare fenomenul de polialelism, frecvența genelor care alcătuiesc seria polialelă este reprezentată nu de un binom la pătrat, ci în funcție de numărul de gene alele, de un trinom, tetranom etc. De pildă, tipul grupelor de sînge uman (A, B, A B și O) este determinat de prezența a trei gene alele, care pot avea următoarea frecvență :

gena $L^A$ frecvența p
gena $L^B$ frecvența q
gena $l$ frecvența r

Menținerea echilibrului genotipurilor și respectiv fenotipurilor într-o populație se realizează conform cu pătratul trinomului $(p+q+r)^2$, adică $p^2 L^A L^A + q^2 L^B L^B + r^2 l l + 2pq L^A L^B + 2pr L^A l + 2qr L^B l = 1$. Din această formulă rezultă că frecvența fiecărui genotip dintr-o populație panmictică este următoarea :

| Fenotipurile | Genotipurile | Frecvența |
|---|---|---|
| A | $L^A L^A$ | $p^2$ |
| | $L^A l$ | 2 p r |
| B | $L^B L^B$ | $q^2$ |
| | $L^B l$ | 2 q r |
| A B | $L^A L^B$ | 2 p q |
| O | $l l$ | $r^2$ |

Pe această bază se poate calcula frecvența fiecărei gene din seria polialelă ce determină tipul grupelor de sînge uman. Iată un exemplu

în acest sens. Studiul unei populaţii formate din 484 eschimoşi privind grupele de sînge a dat următoarele rezultate :

| Nr. de indivizi testaţi | Grupele de sînge | | | |
|---|---|---|---|---|
| | A | B | A B | O |
| 484 | 257 | 19 | 10 | 198 |
| % | 53,13 | 3,93 | 1,98 | 40,96 |

Pentru a calcula frecvenţa celor trei gene alele, se foloseşte formula pătratul trinomului şi datele tabelului cu frevenţa genelor. Din aceste date se poate calcula imediat frecvenţa genei *l* care este egală cu rădăcina pătrată din frecvenţa fenotipului O, adică $\sqrt{0,4096} = 0,64$. Pentru a calcula frecvenţa genei $L^B$ se procedează astfel :

$$A = p^2 + 2\ p\ r$$
$$O = r^2$$
$$A + O = p^2 + r^2 + 2p\,r = (p + r)^2$$

dar p+q+r=l din care rezultă că p+r=l—q şi înlocuind în formula de mai sus, vom avea :

$$A + O = (1 - q)^2$$
$$1 - q = \sqrt{A + O}$$
$$q = 1 - \sqrt{A + O}$$

În cazul nostru, înlocuind cu valorile respective, rezultă :

$$q = 1 - \sqrt{0,5313 + 0,4096} = 1 - \sqrt{0,9409} = 1 - 0,97 = 0,03$$

În mod similar frecvenţa genei $L^A$ este :

$$p = 1 - \sqrt{B + O}$$

şi înlocuind cu valorile noastre, se obţine :

$$p = 1 - \sqrt{0,0393 + 0,4096} = 1 - \sqrt{0,4489} = 1 - 0,67 = 0,33$$

Studiul frecvenţei genelor ce determină grupele de sînge la această populaţie de eschimoşi arată că frecvenţa genei $L^B$ comparativ cu a celorlalte două gene este foarte redusă. Cercetări vaste efectuate în numeroase ţări de pe glob au arătat prezenţa celor 3 gene, cu o frecvenţă diferită însă, la majoritatea populaţiilor de pe glob. Numai la unele triburi de indieni americani (Navajo şi Blackfeet), la aborigenii austra-

lieni și la populația bască din Franța și Spania, gena $L^B$ lipsește complet, ceea ce înseamnă că nu există decît două grupe de sînge : A și O. Studiile privind grupele de sînge și frecvența genelor care le determină prezintă însemnătate pentru caracterizarea antropologică și genetică a populațiilor umane.

## FACTORII CARE MODIFICĂ FRECVENȚA GENELOR ÎNTR-O POPULAȚIE

Analizînd legea Hardy-Weinberg, se poate constata că ea demonstrează că variabilitatea genotipică dintr-o populație se păstrează de-a lungul generațiilor, deoarece frecvența relativă a genelor alele are tendința să rămînă constantă atît timp cît nu intervin factori care să o modifice. De pildă, în cazul unei populații a unei plante alogame în care există indivizi cu flori albe și roșii, prin a căror încrucișare apare culoarea roză, aceasta nu înseamnă că vor dispărea culorile inițiale roșu și alb, ci că raportul dintre indivizii cu flori roșii, albe și roz se va păstra de-a lungul generațiilor în raportul de 1 : 2 : 1 în cazul că numărul indivizilor inițiali cu flori albe și roșii era egal.

Într-o populație acționează însă o seamă de forțe, cum sînt : mutația, selecția naturală, migrația etc., care modifică frecvența genelor.

*Mutațiile* constituie o sursă importantă de diversificare a materialului genetic. Ca urmare, în populații apar mereu cu o frecvență foarte variabilă mutante. Astfel, dacă gena $a_1$ se modifică prin mutație în $a_2$ aceasta înseamnă că în populație se va reduce numărul de gene $a_1$ și vor apărea gene $a_2$. De asemenea trebuie ținut seama că și genele $a_2$ au posibilitatea ca prin mutație de reversie să se transforme în $a_1$.

Admițînd că gena $a_1$, care prezintă frecvența q în populație prin mutații cu rata $u$ egale cu 2/1 000 sau 0,002 se transformă în $a_2$, iar gena $a_2$ se transformă prin mutație în $a_1$ cu rata $v$ egală cu 1/1 000 sau 0,001, atunci echilibrul în populația respectivă este dat de formula $q = \frac{v}{u+v}$, adică $q = \frac{0,001}{0,002+0,001} = \frac{0,001}{0,003} = 0,33$ sau 33%. Aceasta înseamnă că frecvența genei $a_1$ este 33%, iar cea a genei $a_2$ trebuie să fie 66% pentru ca echilibrul să se păstreze în populația respectivă. Numai în acest caz numărul de gene care se schimbă prin mutație într-un sens va fi egal cu cel care se schimbă tot prin mutație în sens invers. Se realizează astfel un echilibru între frecvența mutațiilor de sens opus, fapt care asigură păstrarea variabilității genetice a unei populații, de-a lungul generațiilor. Adesea însă frecvența mutațiilor de sens opus este diferită, astfel că unele mutații capătă o mare răspîndire și au rol important în evoluție.

*Selecția naturală* constituie o altă cauză a modificării frecvenței genelor într-o populație, datorită faptului că unele genotipuri au o mai mare capacitate adaptivă, deci de supraviețuire, comparativ cu altele. De pildă dacă, în conformitate cu legea Hardy-Weinberg, se consideră că din cele 3 genotipuri : *A A*, *A a*, *a a* ultimul conținînd gena recesivă *a*

în stare homozigotă are o valoare adaptivă (valoare selectivă) de 95% comparativ cu celelalte 2 genotipuri care au 100%, aceasta înseamnă că din indivizii cu genotipul *a a* vor supravieţui în fiecare generaţie numai 95%, în timp ce indivizii cu celelalte 2 genotipuri supravieţuiesc în totalitate. Rezultatul acestei capacităţi adaptive diferite este o reducere a frecvenţei genei *a* şi o creştere a frecvenţei genei *A* în fiecare generaţie.

Valoarea adaptivă a genelor (w) variază între 100% (1,00) şi 0% (0,00) în cazul genelor letale. Coeficientul de selecţie (s) este egal în cazul genei *A* cu 0, iar în cazul genei *a* cu 0,05 (adică 1,00—0,95). În cazul în care gena *a* este letală în stare homozigotă, coeficientul de selecţie este egal cu 1 (1,00—0,00), iar valoarea adaptivă $w = 1 - s = 0$.

Ţinînd seama de legea Hardy-Weinberg, se poate aprecia teoretic eficienţa selecţiei artificiale asupra indivizilor care prezintă fenotip dominant sau recesiv. Astfel, dacă se urmăreşte eliminarea indivizilor cu fenotip dominant (*A A* sau *A a*) care prezintă anumite defecte, aceasta se poate realiza într-o singură generaţie prin eliminarea de la reproducere din populaţie (*A A*, *A a* şi *a a*) a tuturor indivizilor cu trăsături dominante (*A A* şi *A a*).

În cazul cînd se urmăreşte eliminarea indivizilor cu caractere recesive (*a a*), selecţia devine mult mai grea deoarece în fiecare generaţie se pot îndepărta numai indivizii homozigoţi în timp ce heterozigoţii (*A a*) rămîn şi transmit mai departe gena *a*. Iată cum descreşte frecvenţa genei *a* într-o populaţie din care se elimină în fiecare generaţie indivizii homozigoţi cu caractere recesive :

| Generaţiile | Frecvenţa genei *a* (1—q) | Indivizii homozigoţi *a a* % | Indivizii heterozigoţi *A a* % | Indivizii homozigoţi *A A* % |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,500 | 25,00 | 50,00 | 25,00 |
| 2 | 0,333 | 11,11 | 44,44 | 44,00 |
| 3 | 0,250 | 6,25 | 37,50 | 56,25 |
| 4 | 0,200 | 4,00 | 32,00 | 64,00 |
| 5 | 0,167 | 2,78 | 27,78 | 69,44 |
| 10 | 0,091 | 0,83 | 16,53 | 82,64 |
| 30 | 0,032 | 0,10 | 6,24 | 93,65 |
| 50 | 0,020 | 0,04 | 3,84 | 96,12 |
| 100 | 0,010 | 0,01 | 1,96 | 98,03 |

Scanned with OKEN Scanner

O astfel de selecţie prin care se elimină indivizii cu caractere recesive în stare homozigotă se poate observa şi în natură în cazul genelor letale. În majoritatea cazurilor, indivizii homozigoţi cu caractere recesive sînt eliminaţi numai parţial. Ca urmare, eliminarea acestora decurge foarte încet, în timp îndelungat, după cum reiese din tabelul următor (după E. W. Sinnot, L. C. Dunn şi T. Dobjansky, 1958). Astfel, în cazul unei populaţii în care există numai 1% indivizi cu caractere recesive homozigote, dacă are loc eliminarea totală în fiecare generaţie

| Generaţiile | s = 1,0 (genă letală) | s = 0,5 (genă semiletală) | s = 0,10 | s = 0,01 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| 10 | 0,25 | 0,46 | 0,84 | 0,98 |
| 20 | 0,11 | 0,26 | 0,71 | 0,97 |

a indivizilor respectivi ($s = 1{,}0$), sînt necesare 10 generaţii pentru a reduce frecvenţa indivizilor *a a* la un sfert din cea iniţială şi 20 de generaţii pentru a o reduce la 0,11% din cea iniţială (1%). Dacă gena *a* este semiletală ($s = 0{,}50$), adică este eliminată numai 50% în fiecare generaţie, sînt necesare 20 de generaţii pentru a o reduce la 0,26%, adică la un sfert. În cazul unor coeficienţi de selecţie (s) mai mici, îndepărtarea indivizilor homozigoţi *a a* se face mult mai lent.

C. C. Li (1955) a elaborat o formulă cu ajutorul căreia se poate calcula modul cum descreşte de-a lungul generaţiilor frecvenţa unei gene recesive letale, datorită eliminării indivizilor homozigoţi. Formula aceasta este următoarea :

$$q_{n+1} = \frac{q_n}{1+q_n},$$

în care $q_n$ este frecvenţa genei recesive letale în generaţia $n$, iar $q_{n+1}$ este frecvenţa genei letale recesive în generaţia următoare $(n+1)$. Ţinînd seama că genele recesive letale au de obicei o frecvenţă foarte redusă, de pildă 1/100, aceasta înseamnă că reducerea frecvenţei lor se face foarte lent în generaţia următoare fiind de 1/101, apoi 1/102 ş.a.m.d. Pentru a reduce frecvenţa genei recesive letale cu frecvenţa de 1/100 la jumătate, adică la 1/200, sînt necesare 100 de generaţii.

Uneori se observă că genele recesive letale îşi menţin totuşi o frecvenţă relativ ridicată într-o populaţie. De pildă s-a constatat că drepanocitoza (anemia falciformă) provocată de prezenţa în sîngele uman a unei hemoglobine anormale, provocată de gena recesivă $h^s$, nu îşi reduce frecvenţa deşi în stare homozigotă ($h^s\ h^s$) această genă determină moartea

indivizilor afectați. S-a constatat experimental că indivizii heterozigoți ($h^a\ h^s$) au o mai mare rezistență la malarie decît indivizii homozigoți care prezintă hemoglobină normală ($h^a\ h^a$). Aceasta se datorește faptului că globulele roșii de la indivizii heterozigoți conțin mai puțin oxigen decît ai celor normali, astfel că parazitul ce provoacă malaria (*Plasmodium falciparum*) nu are condiții favorabile pentru creștere și reproducere.

*Migrația* afectează, de asemenea, frecvența genelor într-o populație, atît prin eliminarea unor gene datorită emigrării de indivizi cît și prin aportul de gene prin venirea unor indivizi (imigrare).

Desigur că pentru ca migrația să ducă la schimbarea fondului genotipic al unei populații, este necesar ca ea să aibă anumite proporții. De pildă, emigrația unor indivizi cu un anumit fenotip dintr-o populație are efecte similare cu selecția în sensul că din populația respectivă sînt eliminate anumite gene. De asemenea, imigrația aportînd gene străine, duce la răspîndirea lor prin încrucișare cu indivizii populației respective, încît are loc o modificare a genotipului și respectiv fenotipului indivizilor.

*Deriva genetică întîmplătoare (random genetic drift) în populațiile mici,* constituie un alt factor care determină modificarea frecvenței genelor. S-a constatat că în populații mici datorită jocului întîmplării, poate avea loc pierderea completă a unor gene. De pildă, dacă într-o populație există plante cu flori roșii ($R\ R$) și cu flori albe ($r\ r$), gameții masculi și femeli au sau gena $R$ sau $r$. În mod normal, în populațiile mari se realizează în $F_2$ repartiția statistică a indivizilor astfel :

$$25\%\ R\ R + 50\%\ R\ r + 25\%\ r\ r.$$

Dacă însă numărul plantelor heterozigote ($R\ r$) în $F_1$ este foarte mic, se poate întîmpla să se unească în procesul fecundației numai gameți cu gena $r$, fapt care duce la apariția exclusivă de indivizi cu flori albe ($r\ r$) și ca urmare la eliminarea genei $R$.

Fenomenul poate fi mai bine intuit dacă se ține seama că numărul de perechi de alele este de obicei foarte mare în cadrul unei populații. De exemplu, la *Zea mays* unde $2\ n = 20$, dacă se admite că fiecare pereche de cromozomi conține cîte o singură pereche de alele, numărul de combinații care se realizează în $F_2$, conform cu legile lui Mendel, este de 1 048 576 ($4^{10}$). Numărul de gameți masculi fiind foarte mare, este posibil ca la un număr redus de plante dintr-o populație mică să se realizeze toate aceste combinații. Dimpotrivă, numărul de gameți femeli este foarte redus, fiind de cîteva sute pe o plantă, astfel că în cazul unui număr redus de plante, bineînțeles că nu se realizează decît o mică parte din combinațiile posibile. În urma fecundării devine astfel posibilă pierderea accidentală a unor gene din populația cu număr redus de indivizi.

Pentru a putea aprecia importanța derivei genetice întîmplătoare în populațiile mici, trebuie comparate două populații : de pildă una de 2 000 000 indivizi și una de 200 indivizi, în care frecvența unor gene alele $A$ și $a$ este egală, adică $q = 1 - q = 0{,}5$. Ținînd seama că populația numeroasă provine din unirea în procesul fecundației a 4 000 000 gameți

purtători ai genelor *A* sau *a*, se poate observa că numărul de gene *A* și respectiv *a* calculat statistic este de

$$\bar{x} \pm s_{\bar{x}} = \bar{x} \pm \sqrt{\frac{s^2}{n}} = 2\,000\,000 \pm \sqrt{\frac{2\,000\,000 \times 2\,000\,000}{4\,000\,000}} =$$

$$= 2\,000\,000 \pm \sqrt{1\,000\,000} = 2\,000\,000 \pm 1000.$$

În cazul populației mici, numărul total de gene este de 400, din care dacă se calculează statistic frecvența genei *A* și respectiv *a* se constată că $\bar{x} \pm s_{\bar{x}} = 200 \pm \sqrt{\frac{200 \times 200}{400}} = 200 \pm 10$. Se poate ușor observa că în cazul populației mari eroarea standard reprezintă 1/2 000, adică 0,0005%, iar în cazul populației mici eroarea standard este de 10/200, adică 5%. Ca urmare a derivei genetice întîmplătoare, în populațiile mici are loc modificarea frecvenței genelor relativ rapid.

## POLIPLOIDIA, ANEUPLOIDIA ȘI EVOLUȚIA

Cercetări ample, efectuate mai ales în ultimele decenii, au demonstrat că poliploidia și aneuploidia au un rol important în procesul de speciație, de evoluție al viețuitoarelor. De pildă, la autotetraploizi prin schimbarea raportului între genele dominante și recesive are loc modificarea profundă a echilibrului genetic al organismelor respective, iar segregarea se petrece în alte raporturi decît la organismele diploide. Astfel, în cazul unei perechi de gene alele *A* și *a*, la autotetraploizi se pot realiza două tipuri de organisme homozigote *(A A A A* și *a a a a)* și trei tipuri de indivizi heterozigoți *(A A A a, A A a a, A a a a)*, care însă prezintă fenotipic caracterul dominant. În ceea ce privește gameții, ei sînt, de asemenea, mai variați *(A A, A a, a a)* decît la organismele diploide, astfel că în urma segregării organismelor heterozigote în $F_2$ în cazul unei perechi de gene alele, raportul înclină mult în favoarea organismelor care fenotipic prezintă caracterul dominant. De pildă, în cazul organismului heterozigot *A A a a* segregarea după fenotip în generația următoare are loc în raport de 35 *A*/1 *a*. În cazul a două perechi de gene alele, fenotipul recesiv apare în raport de numai 1/1 295, iar în cazul a trei perechi de gene alele în raport de 1/45 000.

Desigur că acest tip diferit de segregare și echilibrul genetic modificat al genelor constituie izvoare importante de variație ereditară a organismelor, oferind un material bogat procesului de evoluție al speciilor.

Cercetări relativ recente au arătat că în general *poliploidia este foarte răspîndită în natură, îndeosebi la plante*. După datele lui A. P. Baranov (1955), din cele 652 de genuri de plante care constituie 80% din

flora Europei Centrale, 233 genuri care cuprind 421 de specii sînt diploide, iar 419 genuri care cuprind 1 803 specii sînt poliploide. Aceasta înseamnă că 64,2% din genurile de plante din Europa Centrală au specii poliploide.

De asemenea, este interesant de remarcat că la genurile care cuprind specii poliploide, numărul mediu de specii la un gen este de 4,3, iar în grupa genurilor numai cu specii diploide, numărul mediu de specii la un gen de 1,8. Acest fapt arată contribuția însemnată a fenomenului poliploidiei la intensificarea procesului de geneză a noi specii de plante.

Studiul răspîndirii speciilor poliploide naturale pe glob evidențiază un fapt extrem de interesant, și anume că *numărul speciilor poliploide este mai mare în regiunile cu climat mai aspru,* respectiv în regiunile nordice, în cele montane, în cele deșertice, precum și în regiunile caracterizate prin variații mari de temperatură. Reproducem mai jos cîteva date dintr-un tabel alcătuit la plante, de A. Löve și D. Löve (1957) și care demonstrează acest lucru :

| Țara sau regiunea geografică | Numărul de specii în floră | % poliploizi | % stabilit în urma cercetărilor citologice | Anii în care s-a efectuat studiul |
|---|---|---|---|---|
| Insulele Cycade | 1 186 | 37,0 | 49,0 | 1955 |
| Sahara de Nord | 300 | 37,8 | 50,0 | 1957 |
| România | 3 365 | 46,8 | 65,0 | 1948 |
| Ungaria | 2 039 | 48,6 | 72,0 | 1955 |
| Europa Centrală | 2 909 | 50,0 | 73,0 | 1955 |
| Danemarca | 1 306 | 53,5 | 91,0 | 1949 |
| Anglia | 1 778 | 53,3 | 81,0 | 1955 |
| Schleswig-Hollstein | 1 081 | 54,6 | 89,0 | 1955 |
| Suedia | 1 526 | 56,9 | 87,0 | 1949 |
| Finlanda | 1 285 | 57,3 | 86,0 | 1949 |
| Norvegia | 956 | 57,6 | 87,0 | 1949 |
| Islanda | 394 | 72,1 | 100,0 | 1957 |
| Groenlanda de sud-vest | 222 | 74,0 | 85,0 | 1955 |
| Țara lui Franz-Joseph | 36 | 75,0 | 100,0 | 1957 |
| Insulele Spitzbergen | 145 | 76,2 | 84,0 | 1957 |

Din datele acestea rezultă faptul că în regiunile arctice gradul de poliploidie este mult crescut. Același fenomen se observă și în regiunile montane. Studiind peste 500 de specii de plante din flora alpină

a Caucazului, Altaiului, Pamirului și cea a Arcticii, A. P. Sokolovskaia și O. S. Strelkova (1962) demonstrează un fapt similar.

| Regiunea geografică | Numărul total de specii analizate | din ele % | |
|---|---|---|---|
| | | poliplozi | diploizi |
| Caucaz | 164 | 49,5 | 49,5 |
| Altai | 138 | 62,9 | 37,0 |
| Pamir | 86 | 86,0 | 14,0 |
| Arctica | 199 | 72,0 | 27,9 |

Procentul ridicat de poliploizi nu caracterizează numai flora Arcticii, Antarcticii și regiunilor montane, ci și pe cea a Saharei, a malurilor insulelor japoneze (unde bat adesea vînturi reci) și a regiunilor sărăturoase. Această răspîndire a poliploizilor în regiunile cu condiții de mediu mai aspre se datorește faptului că plantele poliploide au o vitalitate mai mare, sînt mai rezistente la condiții climatice vitrege și au posibilități mai mari de adaptare la mediu, fiind capabile să asigure răspîndirea speciei respective în arealuri noi.

În țara noastră, cercetări privind frecvența poliploizilor naturali la plante au fost efectuate de I. Tarnavschi (1948).

Din aceste date rezultă o primă idee importantă pentru evoluția speciilor, și anume aceea că *poliploizii manifestă tendința de a ocupa regiuni geografice și ecologice mai variate și mai largi decît speciile diploide înrudite cu ele. Într-adevăr,* E. Babcock și G. L. Stebbins (1938), studiind răspîndirea genului *Crepis* în America, au arătat că formele poliploide au arii mai largi de răspîndire decît cele diploide.

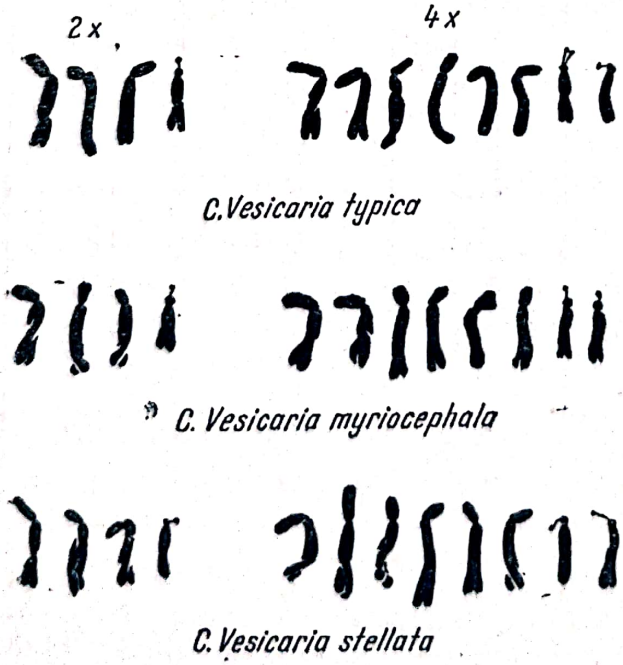



Fig. 200. Cariotipul la 3 varietăți de *Crepis vesicaria*, fiecare avînd forme 2 *n* și 4 *n* (după Babcock și Jenkins 1943).

La o concluzie asemănătoare au ajuns și cercetătorii G. Haase și R. Goldschmidt (1946), studiind o formă decaploidă a artropodului *Artemia salina,* capabilă să trăiască într-o apă cu o concentrație de sare care întrece de cîteva ori pe cea a Mării Moarte. Acest fapt probează importanța extrem de mare a poliploidiei în răspîndirea speciei *Artemia salina.*

Din această capacitate a poliploizilor de a cuprinde medii largi și mai variate de viață decurge încă o idee importantă pentru înțelegerea evoluției speciilor poliploide, și anume tendința lor de a lărgi granițele din care au provenit. De obicei, poliploizii au alte norme de reacție la mediu decît formele diploide care le-au dat naștere și ca atare ei migrează în afara granițelor arealului grupului originar, fie înlocuiesc în același areal forma diploidă.

La specia de crucifere *Biscutella laevigata* există în Europa atît forme 2 *n* cît și forme 4 *n* și 6 *n.* Studiul distribuției lor geografice a arătat că diploizii trăiesc în cîmpie, iar tetraploizii și hexaploizii în regiunile montane din Alpi și în munții Spaniei.

La *Valeriana officinalis* formele diploide pot fi găsite în regiunile de cîmpie ale Europei și Asiei, în timp ce formele tetraploide și octoploide pot fi găsite în regiuni variate : cu climat foarte uscat, cu soluri acide, cu altitudine mare etc. În acest fel, formele 4 *n* și 8 *n,* deși au o fertilitate mai redusă și o capacitate mai mare de reproducere vegetativă prin rizomi și bulbili, ocupă anumite regiuni cu condiții climatice mai aspre deoarece ele au adaptabilitate mărită.

Foarte interesant de urmărit este modul cum s-a produs evoluția în genul *Primula,* la care o dată cu apariția unor specii poliploide s-a

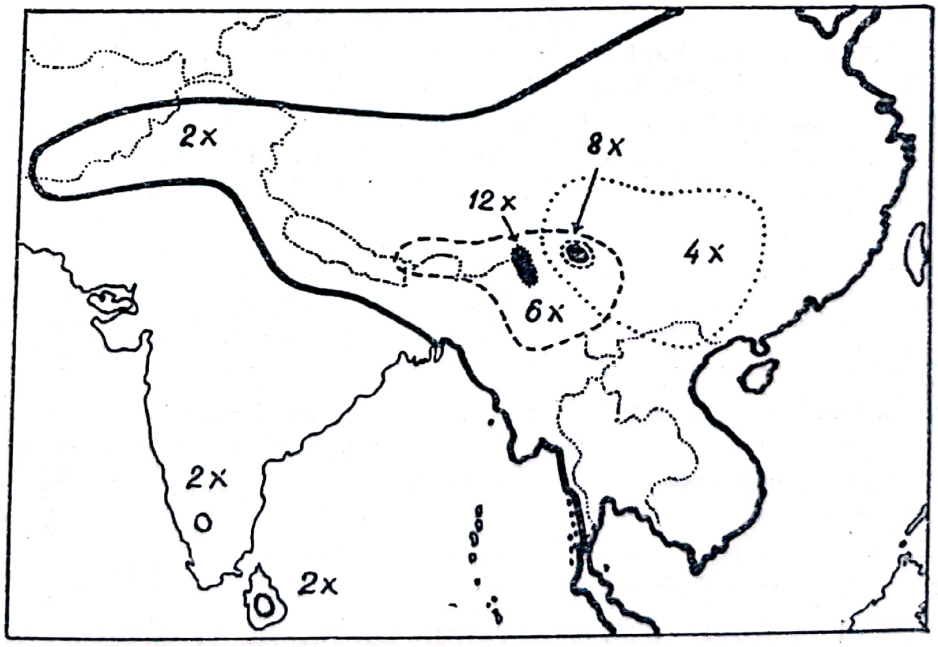



Fig. 201. Harta distribuției asiatice a speciilor de *Rhododendron* cu grade diferite de poliploidie (după Jamaki, 1950).

produs și o extindere a arealului ocupat. Astfel, din speciile diploide (2 $n$ = 18) *P. farinosa, P. frondosa* și *P. modesta,* originare din regiunile temperate ale Eurasiei, au apărut mai întîi autotetraploizi (2 $n$ = = 36), prin a căror încrucișare s-au produs speciile alotetraploide *P. longiflora* și *P. yuparensis.* Acești alotetraploizi au început să-și extindă arealul în regiunile montane. Ulterior au apărut specii hexaploide (2 $n$ = 54), octoploide (2 $n$ = 72) și 14 — ploide (2 $n$ = 126), care au continuat să extindă arealul acestui gen în regiunile arctice și în America.

Un alt fenomen care trebuie remarcat este *modificarea mărimii cromozomilor prin poliploidie.* La o seamă de genuri de plante la care există serii poliploide, cum sînt *Dianthus, Chrysanthemum, Narcissus* etc., s-a observat că speciile poliploide au cromozomii mai mici decît cele diploide. În acest caz este vorba de fapt de o preadaptare, poliploizii apărînd la speciile diploide la care a avut loc o reducere a mărimii cromozomilor și respectiv a habitusului plantelor. Aceste specii au dat naștere cu ușurință la forme poliploide, în timp ce din speciile diploide cu cromozomi mari se obțin mai greu poliploizi.

Cercetările privind poliploidia la plante au demonstrat, de asemenea, corelația dintre acest fenomen și apariția formelor multianuale și a posibilității lor de înmulțire pe cale vegetativă. Astfel s-a constatat că *fenomenul poliploidiei este mult mai răspîndit în rîndul plantelor multianuale decît celor anuale.* Astfel *Zea mays* (2 $n$ = 20) este o formă anuală, în timp ce autotetraploidul artificial (2 $n$ = 40) este multianual. În mod similar specia înrudită *Euchlaena mexicana* (2 $n$ = 20) este plantă anuală, în timp ce specia *E. perennis* (2 $n$ = 40) aparținînd aceluiași gen este plantă perenă, după cum arată și numele. În general s-a constatat că *mărirea gradului de poliploidie este direct corelată cu apariția unor organe de înmulțire vegetativă,* ca : rizomi, stoloni, tuberculi, bulbi etc. După datele lui M. Sakisaka (1950), speciile diploide din genurile *Chrysanthemum, Polygonum* și *Dioscorea* sînt lipsite de organe de înmulțire vegetativă, în timp ce paralel cu creșterea gradului de poliploidie apar rizomi tot mai dezvoltați.

| Genurile | SPECIILE | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Diploide nu au rizomi | Tetraploide au rizomi reduși | Hexaploide au rizomi dezvoltați | Octoploide au rizomi foarte mari |
| *Chrysanthemum* | *coronarium* | *indicum* | *morifolium* | *decaisneamum* |
| *Polygonum* | *oriculata* | *japonicum* | *amphibium* | *reynons* |
| *Dioscorea* | *tokoru* | *japonica* | *sativa* | *bulbifera* |

În cazul genului *Chondrilla* s-a constatat că speciile diploide (2 $n$ = 10) se înmulțesc sexuat, în timp ce speciile triploide și tetraploide se înmulțesc prin apogamie.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările privind importanța poliploidiei în apariția de forme multianuale și cu organe de înmulțire vegetativă au arătat, în primul rînd, că la poliploizii naturali și experimentali se observă ca regulă generală o tendință spre prelungirea perioadei de vegetație, datorită mai ales frecvenței mai reduse a diviziunilor celulare și măririi timpului mitotic. Pe de altă parte, s-a constatat că poliploidia, determinînd modificări în procesul de diviziune de reducere cromozomală, este însoțită de o reducere a fertilității plantelor sau chiar de sterilitatea lor totală. De pildă, formele cu un număr impar de cromozomi (triploizii, pentaploizii etc.) sînt complet sterile, încît existența lor este posibilă numai datorită înmulțirii vegetative. În felul acesta, apariția perenității și a organelor de înmulțire vegetativă constituie o modalitate de adaptare a organismelor poliploide, care le permite în condițiile unei fertilități mai reduse, să supraviețuiască în urma selecției naturale.

În afară de autopoliploidie, *un rol important în evoluția speciilor l-au jucat pseudopoliploidia, aneuploidia și pseudoaneuploidia.* Frecvența pseudopoliploizilor la genuri cum sînt *Carex, Elocharis, Spirogyra* dintre plante, *Ascaris, Thyanta, Tatera* dintre animale probează rolul însemnat al fragmentării cromozomilor în apariția speciilor noi. De asemenea, existența a numeroase genuri care au un număr de bază diferit atestă faptul că la baza diversificării speciilor au stat și fenomene de aneuploidie. De exemplu în cadrul genului *Brassica* există specii care au ca număr de bază $x = 8, 9, 10, 11$.

La *Draba verna,* plantă tipic autogamă, există forme diploide ($2n = 14$) adaptate la un climat uscat, forme octoploide ($2n = 56$) adaptate la climat foarte umed și forme tetraploide ($2n = 28$) adaptate la condiții intermediare. Pe lîngă aceasta există însă numeroase forme aneuploide ce prezintă un număr foarte variat de cromozomi și care sînt un fel de microspecii, deși încrucișarea ocazională dintre ele dă naștere la descendenți fertili. După cercetările lui Winge (1940), efec-

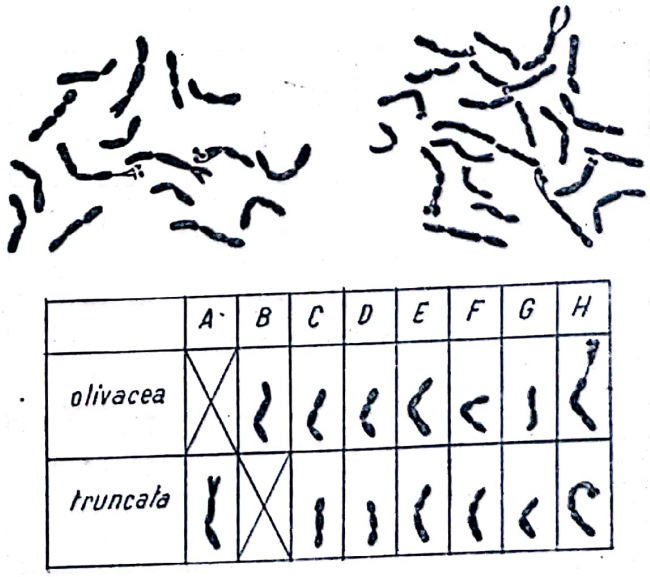



Fig. 202. Cromozomii somatici la o specie diploidă (2 n = 16) și una triploidă (2 $n$ = 24) de *Taraxacum.* Din specia triploidă au rezultat diferite alte specii cu 2 $n$ = 23, la care s-a pierdut un cromozom dintr-o garnitură haploidă, ca de pildă, la *T. olivacea* și *T. truncata* (după Sörensen și Gudjonsson, 1946).

tuate la plante de *Draba verna* din mai multe țări, numărul de cromozoni variază între 14 și 64, toate formele provenind probabil dintr-un tip diploid inițial.

| Țările | 2x | 4x± | | | | | | 8x± | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 14 | 24 | 30 | 32 | 34 | 36 | 40 | 52 | 54 | 58 | 64 |
| Danemarca | 33 | — | 22 | 1 | 1 | 11 | — | 6 | — | 2 | — |
| Olanda | 1 | — | 1 | — | — | — | — | — | — | — | 1 |
| Anglia | — | — | 11 | — | 2 | 3 | 1 | 4 | 2 | — | — |
| Germania | — | 3 | — | — | — | — | 1 | — | — | — | — |
| Suedia | — | — | 1 | — | — | 6 | — | — | — | — | — |
| Total : | 34 | 3 | 35 | 1 | 3 | 20 | 2 | 10 | 2 | 2 | 1 |

Datorită autogamiei, toate aceste tipuri cu număr de cromozomi variat se pot conserva, astfel că specia este alcătuită de fapt dintr-un număr mare de microspecii. Fenomene similare au fost descrise și la alte specii, ca : *Saxifraga granulata, Cardamina pratensis, Caltha palustris, Cochlearia anglica* etc.

La *Poa alpina vivipara,* care așa cum arată și numele are posibilități de reproducere vegetativă, există clone cu număr variat de cromozomi, a căror frecvență este dependentă de altitudine, în sensul că formele cu mai mulți cromozomi sînt mai bine adaptate la înălțimi mai mari. Cercetările botanistei poloneze M. Skalinska (1952) au evidențiat acest fenomen prin studiul a 111 clone de *Poa alpina vivipara* din munții Tatra, după cum reiese din tabelul următor :

| Altitudinea | 2n | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 14 | 22 | 26 | 28 | 33—35 |
| 500—1 000 m | 1 | 17 | 9 | 7 | 2 |
| 1 500 m | — | 9 | 9 | 4 | 9 |
| 1 800 m | — | 6 | 3 | 5 | 11 |
| 2 300 m | — | 1 | 4 | — | 9 |
| Total: | 1 | 33 | 30 | 16 | 31 |

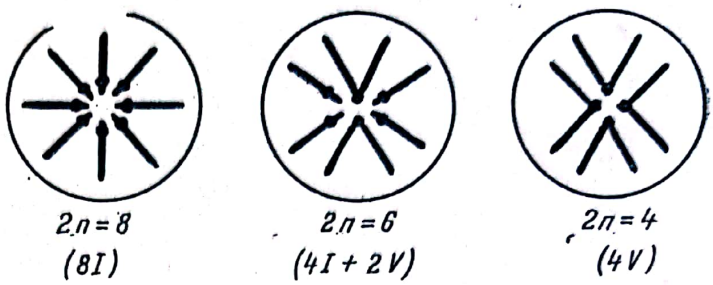



Fig. 203. Reprezentarea schematică a mecanismului de fuzionare și fisionare a cromozomilor.

În sfîrșit nu trebuie neglijată posibilitatea *pseudoaneuploidiei* evidențiată ca modalitate de apariție a unor specii din genul *Crepis (C. fuliginosa* și *C. neglecta),* din genul *Fritillaria (F. pudica, F. imperialis, F. ruthenica)* sau din genul *Drosophila (D. virilis, D. texana, D. americana, D. littoralis* etc.). Încă în 1916 W. R. B. Robertson a arătat posibilitatea apariției unor specii pseudoaneuploide printr-un proces de *fuzionare a centromerilor,* prin care se reunesc doi cromozomi acrocentrici (în forma literei I) într-unul metacentric (în forma literei V). Printr-un proces opus de *fisionare a centromerilor,* un cromozom metacentric se poate transforma în doi cromozomi acrocentrici. Desigur că ambele procese sînt însoțite de fenomenul de *translocație reciprocă* a brațelor respective ale cromozomilor. Studii de *citogenetică comparativă* au demonstrat că multe specii din cadrul unui ordin, unei familii sau unui gen au apărut pe această cale. Deși ele au un număr diferit de cromozomi, au totuși același *număr fundamental (N F)* de brațe principale cromozomiale. Aceste specii alcătuiesc așa-numitele *serii robertsoniene,* ce au origine comună.

Cercetările lui R. Matthey (1964) referitoare la un număr de 389 specii de mamifere au arătat că un număr de 224 specii au numărul diploid de cromozomi, cuprins între 40 și 56, în timp ce 105 specii au mai puțin de 2 $n = 40$ și 60 de specii au peste 2 $n = 56$. Pe această bază, el emite ipoteza că speciile cu număr mai mic de cromozomi au apărut printr-un proces de fuzionare a centromerilor, iar speciile cu număr mai mare de cromozomi printr-un proces de fisionare a centromerilor. De asemenea, el consideră că frecvența fuzionării este mai mare decît a fisionării centromerilor.

P. Raicu, M. Hamar, S. Bratosin și I. Borșan (1967), efectuînd cercetări citogenetice și biochimice comparative la hamsterul românesc *(Mesocricetus newtoni)* care are 2 $n = 38$ și cel sirian *(M. auratus)* care are 2 $n = 44$, consideră că diferențierea cariotipului și reducerea

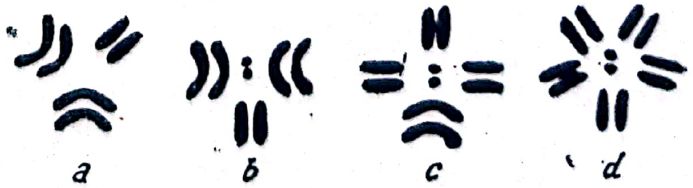



Fig. 204. Cariograme la *Drosophila willistoni* (a), *D. melonogaster* (b), *D. obscura* (c), *D. virilis* (d).

Fig. 205. Metafaza diviziunii reducţionale la masculul de *Mesocricetus newtoni* în care se remarcă 19 bivalenţi, cromozomii sexului fiind asociaţi de tip cap — la — cap (original).

numărului de cromozomi la hamsterul românesc s-a realizat printr-un proces robertsonian de fuziune centrică şi prin translocaţia unei perechi de cromozomi. Studiul comparativ al heterozomilor la 4 specii de hamster, după cercetările noastre şi cele ale lui K. Fredga şi B. Santeson (1964), arată că la hamsterul românesc are loc în cursul meiozei un proces de asociere constantă a cromozomilor sexului X şi Y de tip *„cap — la — cap“* (end — to — end) la fel ca la hamsterul sirian cu care este înrudit. Aceasta spre deosebire de alte două specii de hamster *Cricetulus griseus şi Cricetus cricetus* (ambele cu 2 $n$ = 22), la care datorită unei omologii parţiale a cromozomilor X şi Y, are loc un proces de asociere de tipul *„latură — pe — latură“* (side — by — side).

Studiul electroforetic şi cromatografic al fracţiilor proteice şi aminoacizilor din serul sanghin şi ficatul diferitelor specii de hamster a demonstrat existenţa unor deosebiri biochimice, similare celor cu caracter citogenetic. În procesul de speciaţie, pe lîngă mutaţiile cromozomiale care au determinat formarea de cariotipuri distincte, s-au produs mutaţii genice ce au dus la apariţia unor fracţii proteice şi aminoacizi liberi diferiţi.

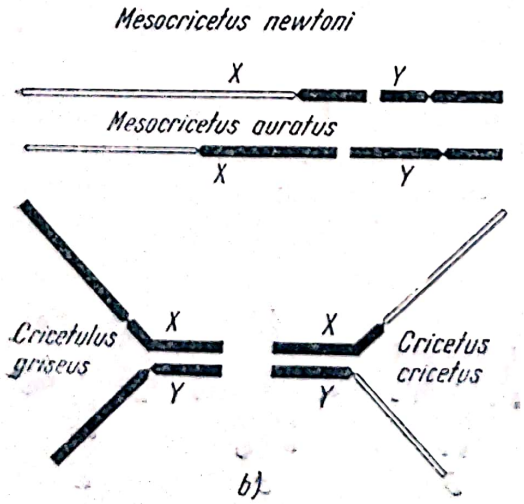



Fig. 206. Reprezentarea schematică a bivalenţilor formaţi de cromozomii sexului la 4 specii de hamster (modificat după K. Fredga şi colab., 1964).

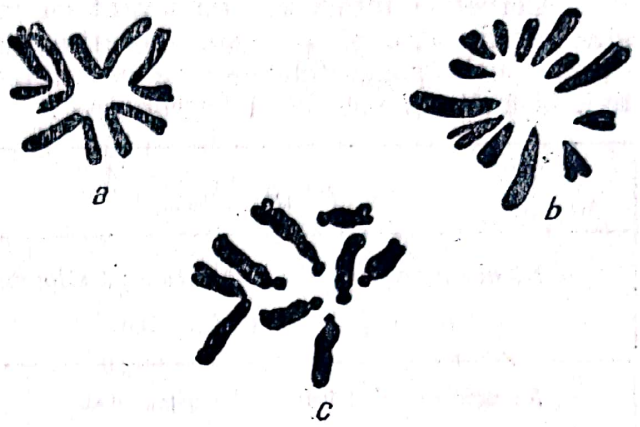



Fig. 207. Cromozomii haploizi la *Tradescantia gigantea* (a), *T. disgregea* (c), *T. micrantha* (b). Variația numărului de cromozomi se datorește fuzionării sau fisionării centromerului cromozomial.

Un exemplu interesant de serie robertsoniană la plante îl constituie genul *Carex,* în care prin fragmentare, deleții, duplicații, fuzionare etc. au apărut specii noi cu un număr variat de cromozomi. Iată cîteva dintre acestea cu numărul haploid de cromozomi :

| | | | |
|---|---|---|---|
| *C. pilulifera,* | $n = 9$ | *C. wahnensis,* | $n = 24$ |
| *C. ericetorum,* | $n = 15$ | *C. bicolor,* | $n = 25$ |
| *C. panicea,* | $n = 16$ | *C. dioica,* | $n = 26$ |
| *C. humilis,* | $n = 18$ | *C. frigida,* | $n = 28$ |
| *C. montana,* | $n = 19$ | *C. lachenolii,* | $n = 29$ |
| *C. depauperata,* | $n = 22$ | | |

## ROLUL AMFIPLOIDIEI ÎN EVOLUȚIE

Hibridarea interspecifică împreună cu poliploidia au determinat un proces de *recombinare genetică* și respectiv un *transfer de gene* de la o specie la alta, fapt care a dus la apariția de specii noi amfiploide. Încă din 1917 Q. W i n g e, studiind modul de apariție a unor specii de plante, a emis ipoteza că ele au apărut printr-un proces complex de hibridare interspecifică și poliploidie, fapt confirmat experimental ulterior de A. M ü n t z i n g (1932). Acesta a făcut încrucișări între speciile *Galeopsis pubescens* ($2n = 16$) și *G. speciosa* ($2n = 16$) și a obținut un hibrid care înglobează numărul de cromozomi somatici ai acelor două specii, hibrid care nu este altceva decît specia binecunoscută *G. tetrahit* ($2n = 32$). Pentru prima oară s-a reușit astfel *resinteza artificială a unei specii,* adică s-a reparcurs într-un timp scurt calea pe care s-a desfășurat procesul de speciație în natură. Studiul mecanismului de realizare experimentală a amfiploizilor a facilitat descifrarea modului în care s-a produs evoluția filogenetică a multor genuri și specii.

Cercetări ulterioare au arătat că multe specii cultivate sînt la origine amfiploizi, şi pe cale experimentală s-a reuşit ca prin încrucişarea speciilor genitoare să se resintetizeze artificial amfiploizii respectivi. Iată cîteva exemple în acest sens :

| Genitorii | Amfiploizii |
|---|---|
| *Nicotiana sylvestris* × *N. tomentosiformis* (2 *n* = 24) (2 *n* = 24) | *N. tabacum* (2 *n* = 48) |
| *Nicotiana tabacum* × *N. glutinosa* (2 *n* = 48) (2 *n* = 24) | *N. digluta* (2 *n* = 72) |
| *Galeopsis pubescens* × *G. speciosa* (2 *n* = 16) (2 *n* = 16) | *G. tetrahit* (2*n* = 32) |
| *Phleum pratense* × *Ph. alpinum* (2 *n* = 14) (2 *n* = 28) | *Ph. pratense hexaploidum* (2 *n* = 42) |
| *Rubus idaeus* × *R. caesius* (2 *n* = 14) (2 *n* = 28) | *R. maximus* (2 *n* = 42) |
| *Bromus trinii* × *B. haenklanus* (2 *n* = 42) (2 *n* = 42) | *B. arizonicus* (2 *n* = 84) |
| *Madia gracilis* × *M. citriodora* (2 *n* = 32) (2 *n* = 16) | *M. citrigracilis* (2 *n* = 48) |
| *Brassica nigra* × *B. campestris* (2 *n* = 16) (2 *n* = 20) | *B. juncea* (2 *n* = 36) |
| *Brassica nigra* × *B. oleracea* (2 *n* = 16) (2 *n* = 18) | *B. carinata* (2 *n* = 34) |
| *Brassica oleracea* × *B. campestris* (2 *n* = 18) (2 *n* = 20) | *B. napus* (2 *n* = 38) |

Un exemplu deosebit de interesant privind procesul de speciaţie prin amfiploidie îl constituie genul *Gossypium*. La bumbac (genul *Gossypium*) sînt cunoscute 20 de specii, din care 9 sînt originare din lumea

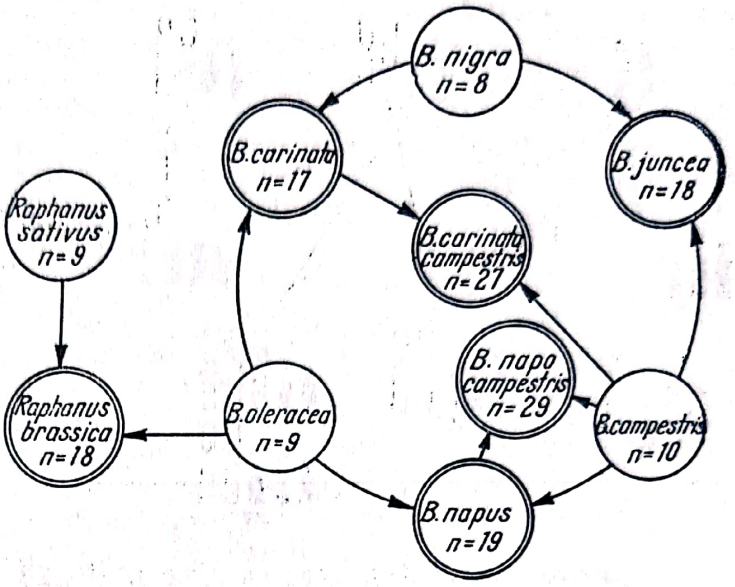



Fig. 208. Reprezentarea schematică a apariției unor amfiploizi în genurile *Brassica* și *Raphanus*.

veche (Asia, Africa, Australia), iar 11 sînt originare din America. Din cele 11 specii americane, un număr de 8 au $2n = 26$ cromozomi mici, iar celelalte 3 specii (*G. hirsutum, G. barbadense* și *G. tomentosum*) au $2n = 52$ cromozomi, din care jumătate sînt mici și jumătate sînt mari. Toate cele 9 specii originare din lumea veche au $2n = 26$ cromozomi mari. Pornind de la aceste observații, s-a ajuns la concluzia că speciile tetraploide cultivate *G. hirsutum* și *G. barbadense*, precum și specia tetraploidă sălbatică *G. tomentosum* sînt amfiploizi între bumbacul din lumea veche și cel din lumea nouă. Cercetările lui *S. G. Stephans* (1947) au dovedit experimental că speciile tetraploide de bumbac cultivat au provenit prin încrucișarea între o specie diploidă cultivată originară din Asia (*G. arboreum*, $2n = 26$) și o specie diploidă sălbatică originară din Peru (*G. raimondii*, $2n = 26$) sau după alți cercetători — *G. thurberi* ($2n = 26$) originară din Arizona.

Studiile lui A. E. Zeilinga (1962) la genul *Begonia*, care se înmulțește ușor pe cale vegetativă, au arătat existența unor specii diploide, cum sînt *B. semperflorens* ($2n = 34$) și *B. schmidtiana* ($2n = 32$), a unor hibrizi cu număr intermediar de cromozomi, ca, de pildă, *B. bruanti* ($2n = 33$) și *B. versaliensis* ($2n = 33$), a unor amfiploizi, ca, de pildă, *B. semperflorens gracilis* ($2n = 66$) și ($2n = 68$) etc. În 1936 a fost obținută pe cale artificială specia *B. heterosis* ($2n = 50$) din încrucișarea *B. semperflorens* ($2n = 34$) cu *B. semperflorens gracilis* ($2n = 66$). Acest studiu evidențiază cît de mult a contribuit hibridarea interspecifică și poliploidia la apariția unor noi specii artificiale în cadrul genului *Begonia*. Procesul de geneză a noilor specii a fost ușurat de capacitatea plantelor din acest gen de a se reproduce pe cale vegetativă. De asemenea, trebuie menționat că înainte de anul 1828 nu exista în cultură decît specia *B. semperflorens*, toate celelalte fiind create în perioada 1828—1936.

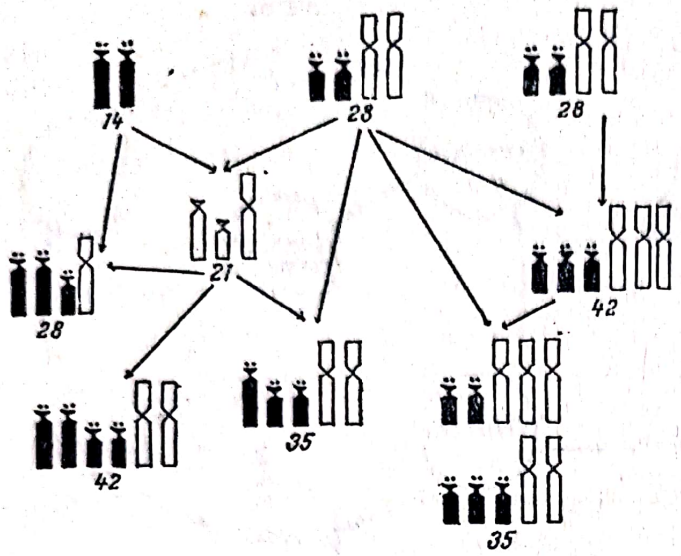



Fig. 209. Originea unor specii de *Holcus* prin hibridare între *H. mollis* și *H. lanatus* urmată de poliploidie (după Jones, 1958).

În genul *Narcissus*, care conține peste 20 de specii, evoluția a avut loc foarte rapid, datorită a 2 cauze mai importante : în primul rînd, din cauză că aceste specii sînt cultivate de mult timp ca plante ornamentale și medicinale, iar, în al doilea rînd, datorită posibilității plantelor de a fi reproduse vegetativ prin bulbi. Numai în ultimul secol au fost create peste 10 000 de soiuri, care aparțin la mai multe specii. Trebuie menționat, de asemenea, că în cadrul genului se obțin relativ ușor hibrizi naturali sau artificiali, care înmulțindu-se apoi vegetativ sau sexuat devin adevărate specii noi. Cercetările lui A. Fernandes (1951), A. P. Wylie (1952) etc. au demonstrat originea hibridă a multor specii, după cum reiese din tabelul următor (după Darlington, 1963) :

| Genitorii cu nr. de cromozomi în gameți | Hibrizii cu nr. de cromozomi somatici | Tipul plantelor | Tipul speciilor |
|---|---|---|---|
| *N. pseudo-narcissus* (7) × *N. poeticus* (7) | *N. bernardi* (14) 2 x | Fertile | Sălbatică |
| *N. pseudo-narcissus* (7) × *N. triandrus* (7) | *N. johnstonii* (21) 3 x | Sterile | „ |
| *N. pseudo-narcissus* (7) × *N. jonquilla* (7) | *N. odorus* (14) 2 x | „ | Cultivată |
| *N. garditanus* (7) × *N. jonquilla* (7) | *N. jonquilloides* (21) 3 x | „ | Sălbatică |
| *N. poeticus* (7) × *N. jonquilla* (7) | *N. gracilis* (14) 2 x | „ | Cultivată |
| *N. poeticus* (7) × *N. tazetta* (10) | *N. biflorus* (17, 24) 2 x și 3x | „ | Sălbatică |
| *N. jonquilla* (7) × *N. tazetta* (10) | *N. intermedius* (17) 2 x | „ | „ |
| *N. juncifolius* (7) × *N. tazetta* (10) | *N. dubius* (50) 6 x | Fertile | „ |

Dintre toate speciile de *Narcissus*, rolul cel mai important l-au jucat *N. poeticus* și *N. pseudo-narcissus*, specii la care încă în secolul trecut au apărut spontan autotetraploizi și autotriploizi, iar ulterior prin hibridarea lor s-a format o multitudine de varietăți *2 n*, *3 n* și *4 n*. În

sfîrșit, un rol important în apariția de forme cu valoare economică l-au avut speciile *N. cyclamineus, N. tazetta, N. jonquilla* și *N. triandrus,* prin a căror încrucișare mai ales cu *N. poeticus* și *N. pseudo-narcissus* s-au format hibrizi diploizi, triploizi și tetraploizi. Trebuie menționat că deși majoritatea hibrizilor sînt complet sterili, acest fapt n-a împiedicat apariția a numeroase varietăți și chiar specii care se reproduc vegetativ.

Deosebit de importantă este, de asemenea, crearea unor specii cu totul noi de amfiploizi inexistenți înainte în natură. Este vorba de sinteza artificială a amfidiploidului *Raphanobrassica* (2 $n = 36$), realizat de G. D. Karpecenko (1928), prin încrucișarea lui *Raphanus sativus* (2 $n = 18$) cu *Brassica oleracea* (2 $n = 18$), a amfidiploidului *Triticale* (2 $n = 56$) realizat prin încrucișarea lui *Triticum aestivum* (2 $n = 42$) cu *Secale cereale* (2 $n = 14$), precum și a altor amfiploizi necunoscuți în stare naturală la Graminee și alte grupe de plante. Amfiploidia constituie astfel o cale sigură și rapidă pentru realizarea de *specii noi sintetice artificiale* de plante necunoscute înainte în natură, cu habitus diferit, cu însușiri fiziologice și biochimice bine determinate și cu un număr de cromozomi deosebit de al genitorilor. Se presupune că și la animale amfiploidia ar fi avut un oarecare rol în evoluție, însă pînă acum nu există decît puține cercetări în această direcție. În prezent ideea că evoluția poate fi demonstrată numai cu probe indirecte este depășită, cercetările de genetică arătînd experimental nu numai cum s-au format unele specii — *resinteza artificială a unor amfiploizi naturali* — dar chiar cum se poate realiza *sinteza experimentală a unor specii noi.* Un fapt important ce trebuie subliniat este că noile specii artificiale, avînd cariotip diferit de al genitorilor, nu se pot încrucișa sexuat cu aceștia sau se încrucișează foarte greu și ca urmare între vechile și noile specii apare o barieră genetică care favorizează transformarea unor indivizi izolați apăruți pe calea arătată într-o specie nouă.

## ORIGINEA ȘI EVOLUȚIA BIOCHIMICĂ A MATERIEI VII

Secolul care a trecut de la apariția operei lui Ch. Darwin a permis acumularea unui material foarte bogat, care în esență demonstrează cît de complex este procesul de evoluție și cît de multilaterale sînt căile pe care el se poate realiza. Cercetările de citogenetică și genetică moleculară au permis aprofundarea mecanismului intim prin care se realizează evoluția și chiar resinteza artificială a unor specii existente sau sinteza unor specii noi experimentale necunoscute înainte în natură.

Cercetările recente de genetică moleculară au arătat rolul biologic important al acizilor nucleici, astfel că în prezent nu se poate vorbi de existența materiei vii în absența acizilor nucleici. După cum se știe, chiar și cele mai simple forme de viață, cum sînt virusurile, sînt alcă-

tuite cel puțin din proteine și acizi nucleici : acizi ribonucleici (A R N) sau acizi dezoxiribonucleici (A D N). Pe această bază se poate afirma că primele fenomene vitale au apărut la nivelul interreacțiilor metabolice ale proteinelor și acizilor nucleici. Studiile din ultima vreme privind biochimia acizilor nucleici și rolul lor biologic în transmiterea informației ereditare, a biosintezei proteinelor, a reglajului genetic etc. au necesitat modificarea și completarea teoriei despre apariția vieții pe Pământ, elaborată de biologul englez J. B. S. Haldane și cel sovietic A. I. Oparin încă în deceniul al treilea al secolului nostru.

În linii cu totul generale, această teorie consideră că într-o primă etapă, după apariția pământului, s-au format o seamă de substanțe organice mai simple pe cale abiogenă, adică prin procese pur chimice. După aceea, în oceanul primar s-a realizat complicarea substanțelor organice, în urma unor reacții chimice variate și au apărut astfel proteine, acizi nucleici și enzime. În sfîrșit, în ultima etapă s-a produs o concentrare a acestor substanțe organice complexe sub forma unor picături de coacervate și apoi, printr-un proces de selecție, cele care prezentau un metabolism mai stabil și aveau capacitatea de reproducere, au evoluat și au dat naștere materiei vii. *Viața poate fi definită în linii cu totul generale ca o formă superioară de mișcare a materiei, pentru care sînt necesare în primul rînd proteine și acizi nucleici și care are capacitate de autoreproducere.*

Studiul materiei vii actuale a arătat că acizii nucleici, în special acizii dezoxiribonucleici, îndeplinesc în celulele viețuitoarelor două funcții importante : o *funcție autocatalitică* în sensul că molecula lor are capacitatea de a se reproduce și a da naștere unor molecule identice, mecanism prin care se realizează transmiterea informației ereditare de la celulele-mamă la celulele-fiice, de la ascendenți la descendenți, și o *funcție heterocatalitică* prin care este determinată biosinteza proteinelor de un anumit tip.

La rîndul lor, proteinele au un rol foarte important în procesele vitale, în special enzimele care acționează drept catalizatori ai proceselor biochimice din celulă. Însăși biosinteza acizilor nucleici se realizează cu ajutorul unor enzime, deși cercetări recente au dovedit că este posibilă sinteza unor polinucleotizi în absența catalizatorilor de natură proteinică. Legătura dintre acizii nucleici și proteine în materia vie se realizează cu ajutorul *codului genetic*, prin care se înțelege faptul că unei anumite structuri biochimice a lanțului polinucleotidic a A D N și A R N îi corespunde o anumită alcătuire a lanțului polipeptidic al proteinelor.

Pe baza cercetărilor moderne privind alcătuirea materiei vii s-au elaborat *două ipoteze mai importante privind apariția vieții*. Astfel prima ipoteză consideră că prin polimerizarea întîmplătoare a aminoacizilor în oceanul primar s-au format molecule de proteine, din care unele (enzimele) manifestau o capacitate catalitică. Acestea au determinat polimerizarea nucleotidelor și apariția deci a acizilor nucleici. *În*

Scanned with OKEN Scanner

*conformitate cu această primă ipoteză, viața a început cu proteinele, iar acizii nucleici au apărut mai tîrziu în cursul vieții și evoluției materii vii.* Latura slabă a acestei ipoteze o constituie faptul că ea nu dă o explicație satisfăcătoare legăturii biologice și biochimice foarte strînse dintre proteine și acizi nucleici, precum și sintezei macromoleculelor acizilor nucleici care controlează biosinteza proteinelor.

*Cea de-a doua ipoteză privind apariția vieții consideră că sinteza acizilor nucleici a premers sintezei proteinelor.* Această ipoteză se bazează pe o seamă de cercetări experimentale efectuate în ultimii ani. În primul rînd este vorba de studiile privind sinteza abiogenă a bazelor azotate. Astfel S. W. Fox și K. Harada (1961) au demonstrat experimental că în atmosfera primară a Pămîntului s-au putut sintetiza bazele azotate adenina și uracilul, iar J. Oro (1961) a arătat că din moleculele de amoniac și cian este posibilă sinteza abiogenă a bazelor azotate purinice și pirimidinice care intră în alcătuirea acizilor nucleici. În 1963, C. Ponnamperuna a obținut adenină prin iradierea unei „atmosfere primare", deci pe cale nefermentativă. Pe această bază se poate presupune că sub influența radiației ultraviolete solare sau a descărcărilor electrice s-au sintetizat nucleotidele, unitățile de bază ale acizilor nucleici. Mai departe este necesară explicația modului cum s-au polimerizat nucleotidele pentru a forma polinucleotizi. Și în acest domeniu există un material experimental interesant: G. M. Tenner, H. G. Khorana, R. Markham și E. H. Pol (1958) au reușit să sintetizeze polinucleotizi cu greutate moleculară de 5 000, iar G. Schramm, H. Grötsch și W. Pollmann (1961) au mers mai departe și au sintetizat experimental polinucleotizi cu greutate moleculară de 50 000. Aceste metode de sinteză artificială a polinucleotizilor se bazează pe folosirea unor agenți care realizează dehidrogenarea într-un mediu uscat, sub influența cărora nucleotizii se polimerizează eliminînd apă. Aceasta demonstrează deci experimental că este posibilă sinteza de acizi nucleici fără enzime drept catalizatori. Ținînd seama că bazele azotate prezintă anumite afinități chimice, adenina reacționînd cu timina, iar guanina cu citozina (aceste baze sînt complementare), existența unui lanț polinucleotidic inițial poate explica formarea unui lanț polinucleotidic complementar prin polimerizarea nucleotidelor libere. În acest fel se pot sintetiza abiogen acizi nucleici de tipul ADN care sînt formați din două lanțuri polinucleotidice paralele răsucite elicoidal, unul în jurul altuia.

A rămas de lămurit încă o problemă extrem de importantă, și anume: cum se realizează legătura dintre acizii nucleici și proteine? Biochimistul A. Rich (1962) consideră că pentru a răspunde la această întrebare, trebuie ținut seama de afinitatea chimică a aminoacizilor față de nucleotide. Ca urmare, la lanțul polinucleotidic pot adera diferiți aminoacizi, care se pot polimeriza și forma polipeptide. Drept catalizator, în absența enzimelor, pot servi suprafețele unor minerale sau argile. În timp ce polimerizarea primară a nucleotidelor are loc cu viteză foarte mică, prin intervenția aminoacizilor ce formează lanțuri polipeptidice ce pot juca

Scanned with OKEN Scanner

rolul de enzime catalizatoare, viteza sintezei acizilor nucleici crește de multe ori. În acest fel se poate explica, deocamdată pe o cale ipotetică, stabilirea legăturii dintre sinteza acizilor nucleici și a proteinelor, adică apariția primitivă a codului genetic.

După părerea lui A. Rich, *viața a apărut în momentul cînd a început sinteza polinucleotizilor cu o anumită succesiune de nucleotide, legată de sinteza polipeptidelor cu o anumită înlănțuire a aminoacizilor.* Desigur că ipoteza care susține că acizii nucleici au fost sintetizați abiogen înaintea proteinelor necesită încă lămurirea experimentală a unor probleme importante. Astfel este cunoscut faptul că în general o dată cu evoluția a avut loc și o creștere cantitativă a A D N din celule. Nu este însă clar de ce macromolecula de A D N conține patru baze azotate diferite, deoarece pentru existența codului genetic ar fi fost suficiente numai două baze azotate (cod de tip Morse).

În ceea ce privește existența a doi aminoacizi nucleici diferiți în celule, după cum se știe ei îndeplinesc funcții diferite : A D N este specializat pentru păstrarea informației ereditare prin replicație și este mai puțin activ metabolic, iar A R N este specializat pentru transformarea informației ereditare, în realitate ajutînd la citirea codului genetic și este foarte activ metabolic. Existența acestor două categorii de acizi nucleici prezintă evident un avantaj pentru selecția naturală, dar nu este încă lămurit experimental dacă ei au o origine comună, mai ales că și A R N este capabil în unele cazuri, de pildă la virusuri, să poarte informația ereditară.

Referitor la existența a 20 de aminoacizi care intră în alcătuirea proteinelor actuale, se consideră că inițial la formele primitive de viață numărul de aminoacizi era mult mai redus și ulterior, în cursul evoluției prin dezvoltarea unor mecanisme de reglare funcțională tot mai fină, au apărut noi aminoacizi care măresc posibilitățile structurale și funcționale ale proteinelor și respectiv ale organismelor.

Cercetările recente de genetică moleculară din laboratoarele lui E. Chargraff în S.U.A. și A. N. Belozerschi în U.R.S.S. au reușit să pună în evidență specificitatea acizilor nucleici proveniți de la diferite specii vegetale sau animale. Pe de altă parte s-a constatat că procesul evoluției se caracterizează și printr-o mărire a cantității de A D N. De pildă s-a observat că are loc o creștere cantitativă a A D N de la virusuri, microorganisme spre pești, însă la pești, amfibieni și mamifere cantitatea variază neregulat. Studiul organismelor poliploide a arătat, de asemenea, că A D N-ul crește cantitativ proporțional cu numărul de garnituri de cromozomi. Evoluția însă are un caracter foarte complex și pe lîngă fenomenul arătat mai sus se întîlnește și un altul în care mărirea numărului de cromozomi nu este corelată cu mărirea cantității de A D N. Este vorba de pseudopoliploidie, fenomen prin care mărirea numărului de cromozomi se realizează prin fragmentarea acestora, astfel că ei devin mai mici, iar cantitatea A D N rămîne constantă.

Evoluția biochimică a materiei vii nu a însemnat numai o creștere cantitativă a componentelor sale, ci și schimbări de ordin calitativ. Astfel

apariția acizilor nucleici și a proteinelor a însemnat și apariția unui mecanism de autoreproducere (replicare) a substanțelor respective, adică a unui aparat genetic. Modificările mecanismului de autoreproducere provocate de mutații, de fenomenul recombinării genetice etc. au determinat schimbări structurale și funcționale ale acizilor nucleici și au dus la apariția de noi și noi organisme mai evoluate, mai bine adaptate la mediu.

E. Tatum (1961) consideră că *evoluția este rezultanta raportului dintre capacitatea de recombinare și mutație a materialului genetic și acțiunea factorilor selectivi ai mediului extern.* Sub influența selecției naturale, mecanismul de autocopiere al materiei vii și în special al acizilor nucleici s-a perfecționat și a dus la realizarea unor sisteme genetice cu o mare stabilitate dinamică. De aceea, studiul succesiunii bazelor azotate în acizi nucleici și a aminoacizilor în lanțul polipeptidic, precum și corespondența dintre aceste două categorii de biomolecule la organisme înrudite contribuie la descifrarea istoriei fiecărei substanțe ce intră în alcătuirea materiei vii. În acest fel devine posibilă nu numai cunoașterea mai aprofundată a materiei vii și a componentelor sale, dar și a precursorilor fiecărei substanțe sau grup de substanțe, fenomen important pentru studiul filogenetic al vieții.

Un exemplu deosebit de interesant în acest sens îl constituie *studiul comparativ al hemoglobinei din sînge,* proteină cu ajutorul căreia se realizează oxigenarea și respectiv respirația organismului. După cum se știe, hemoglobina umană este formată din două lanțuri polipeptidice denumite α și β. La omul adult 2% din moleculele de hemoglobină conțin în locul lanțului polipeptidic β un alt tip de lanț polipeptidic denumit δ. În timpul vieții foetale în sînge se mai găsesc alte două tipuri de lanțuri polipeptidice (γ și ε), care pot înlocui lanțul β. În timp ce lanțul polipeptidic α este format din 141 de aminoacizi, lanțul polipeptidic β sau omologii săi γ și δ sînt formați din 146 aminoacizi.

Studiul comparativ (E. Zuckerkandl, 1965) al lanțului polipeptidic β al hemoglobinei umane și al altor cîtorva specii a arătat că el diferă la gorilă cu un singur aminoacid (la om aminoacidul 104 este arginina, iar la gorilă este leucina), iar față de porc diferă cu 16 aminoacizi și față de cal cu 26 de aminoacizi. Aceste date corespund foarte bine cu gradul de înrudire filogenetică a speciilor respective cu omul. Pe de altă parte, comparînd între ele toate tipurile de hemoglobină

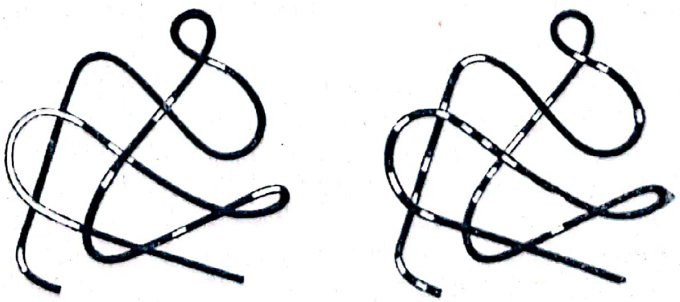


Fig. 210. Molecula de β-hemoglobină este formată din 146 de aminoacizi. Hemoglobina umană diferă de cea de porc prin 16 aminoacizi și de cea de cal prin 26 aminoacizi. Cu negru sînt marcate regiunile comune pentru om/porc (stînga) și om/cal (dreapta).

cunoscute la diferite specii, se constată că numai 15 aminoacizi și-au păstrat aceeași poziție.

La om s-a constatat că cele patru hemoglobine mai importante conțin un număr de numai 52 aminoacizi care și-au păstrat poziția. În ceea ce privește lanțurile polipeptidice β, γ și δ care sînt foarte înrudite s-a remarcat că ele au 105 aminoacizi cu aceeași poziție.

E. T. Balton și B. J. McCarthy (1963) au pus la punct la Institutul Carnegie o tehnică de studiu comparativ al A D N de la diferite specii. În acest scop, ei au pregătit un gel poros pe bază de agar-agar, în care au introdus filamente de A D N de la o specie. Apoi s-au introdus în același mod filamente de A D N de la o altă specie, încît regiunile compatibile ale macromoleculelor de A D N de la cele două specii s-au asociat. În acest fel, prin determinarea gradului de fuziune al A D N se pot trage concluzii privind înrudirea materialului genetic. Rezultatele lor au demonstrat că cu cît speciile sînt mai înrudite filogenetic, cu atît mai mare este gradul de fuziune al A D N. De pildă, între A D N-ul de la șoarece și șobolan există o compatibilitate de 75%, între om și șoarece numai 25%, iar între om și somon numai 5%. Devine astfel posibilă studierea evoluției la nivelul A D N.

Aceste cercetări constituie o contribuție valoroasă la studiul evoluției biochimice a materiei vii. A apărut astfel posibilitatea studierii experimentale a evoluției cu ajutorul metodelor moderne de biochimie, biofizică și genetică moleculară, studii care pot aduce un aport prețios la cunoașterea modului de apariție și evoluție a vieții pe Pămînt.

CAPITOLUL XVIII

# PROBLEME DE GENETICĂ UMANĂ

## SCURT ISTORIC

Primele observaţii asupra unor maladii şi malformaţii ereditare la om au fost făcute încă în antichitate de către *Hipocrate* (460—370 î.e.n.), întemeietorul medicinei. El a remarcat că în special unele malformaţii au o frecvenţă mult mai mare în unele familii. În evul mediu, cunoştinţele privind ereditatea umană n-au avansat decît extrem de lent. În secolul al XVIII-lea medicul P. Maupertius a început unele cercetări privind incidenţa familială, pe baze statistice, a unor malformaţii, cum este polidactilia sau a unor maladii ereditare, cum este albinismul.

Secolul al XIX-lea, cu concentrarea populaţiei în centre urbane mari, cu dezvoltarea cercetărilor în diverse ramuri ale ştiinţei în epoca capitalismului ascendent, a dus şi la dezvoltarea studiilor de genetică umană. Printre cei care au adus o contribuţie importantă în această direcţie a fost F. Galton, văr cu Ch. Darwin, care a început cercetări statistice asupra frecvenţei unor caractere, maladii şi malformaţii ereditare, el putînd fi considerat ca unul dintre fondatorii geneticii populaţiilor. De asemenea, el a elaborat *metoda studiului gemenilor monozigoţi* în vederea deosebirii maladiilor ereditare de cele infecţioase, precum şi pentru a identifica influenţa eredităţii şi a mediului asupra dezvoltării organismului uman.

Redescoperirea legilor lui Mendel în epoca de hotar dintre secolul al XIX-lea şi al XX-lea a determinat un nou avînt cercetărilor de genetică umană şi au dus la descoperirea faptului că unele caractere ereditare se transmit după tipul mendelian. În primii ani ai secolului al XX-lea, o contribuţie remarcabilă la dezvoltarea cercetărilor de genetică umană a adus medicul englez A. E. Garrod, care a descoperit existenţa unor *maladii metabolice ereditare* şi a pus astfel bazele geneticii biochimice. Studiul ma-

Scanned with OKEN Scanner

ladiilor ereditare alcaptonuria și albinismul a dovedit că ele n-au caracter infecțios și se datoresc unor erori înnăscute de metabolism (inborn errors of metabolism) al aminoacizilor fenilalanina și tirosina.

Dezvoltarea citogeneticii a dus, printre altele, și la studiul amănunțit al cromozomilor umani. Greutățile ce decurgeau din imposibilitatea aplicării tehnicilor de cercetare a cromozomilor de la plante și animale ce necesitau sacrificarea organismelor în studiu au făcut ca mulți ani tehnicile de evidențiere a cromozomilor umani să fie nesatisfăcătoare. Ca urmare se considera în mod eronat că garnitura cromozomică diploidă a omului conține 48 cromozomi. Studiul celulelor umane este o achiziție recentă a cercetătorilor și ea se bazează pe perfecționarea tehnicii culturilor de țesuturi umane, cele mai adecvate în acest scop fiind culturile de măduvă osoasă și cele din mici fragmente de piele. Celulele cultivate „in vitro" sînt menținute în diviziune, și pentru punerea în evidență a cromozomilor se folosește, pe de o parte, colchicina care blochează cromozomii în metafază și, pe de altă parte, soluții fiziologice hipotonice care măresc permeabilitatea membranei celulare, ducînd la umflarea celulei și accentuarea diseminării cromozomilor în citoplasmă, făcînd posibilă identificarea lor mai precisă.

Prin utilizarea acestor metode s-a putut analiza cu exactitate garnitura cromozomică umană. Astfel, în 1956 doi citologi suedezi, J. H. Tjio și A. Levan, au publicat un articol în care arătau că numărul cromozomilor în celulele umane este de 46, ca urmare a studiilor întreprinse asupra a peste 265 de celule embrionare cultivate artificial. În același an, cercetătorii englezi C. E. Ford și J. Z. Hammerton semnalau prezența aceluiași număr de cromozomi în preparate testiculare (în garnitura haploidă) obținute de la om. Cercetări ulterioare au dovedit același lucru, în momentul de față fiind stabilit precis că garnitura cromozomică diploidă umană este formată din 46 cromozomi ($2n = 46$).

Deși metoda culturilor de măduvă osoasă (cea mai curent utilizată la un moment dat) este extrem de valoroasă, ea prezintă neajunsul că obținerea unei cantități suficiente de celule pentru cultivare nu se poate face fără a provoca suferințe bolnavilor, și cultura prelungită poate duce la apariția unor modificări artificiale nedorite în garnitura cromozomică. De aceea se caută elaborarea unei metode aplicabile pe un țesut uman mai propice studiului, cum este sîngele. Deși încă din 1935 biologul sovietic G. K. Hrușciov reușise să cultive in vitro leucocite, pînă de curînd nu se putuse declanșa diviziunea celulelor sanguine pe mediu artificial. În 1958 însă, P. Nowell descoperă că o substanță extrasă din fasole, numită *fitohemaglutinină*, are capacitatea de a provoca aglutinarea eritrocitelor, acumularea leucocitelor în cultura sanghină și antrenarea lor în diviziune, deci implicit permite studierea cromozomilor în mitoză. Aceasta a creat posibilitatea studiului mai comod a cromozomilor umani, tehnica utilizîndu-se cu succes în clinică pentru analize citologice în cazul unor maladii corelate cu modificări cromozomiale.

În prezent, cercetările de citogenetică umană au luat un mare avînt și s-au făcut progrese considerabile în studiul unor maladii cromozomiale,

Scanned with OKEN Scanner

genice şi în alcătuirea hărţii genetice a omului. De asemenea, se dezvoltă rapid studiile de genetică biochimică umană, descoperindu-se treptat natura şi chiar mecanismul de apariţie al unor maladii moleculare. În felul acesta, studiile de genetică umană aduc o contribuţie la profilaxia şi chiar tratamentul unor maladii ereditare.

## OMUL CA OBIECT DE STUDIU AL GENETICII

Omul nu constituie un obiect potrivit de studiu pentru genetică, din mai multe motive. În primul rînd, pe om nu se pot face experienţe de încrucişare, aşa cum se fac la plante şi animale, în vederea studierii modului de transmitere ereditară a unor caractere normale sau patologice. În al doilea rînd, la om nu este posibilă obţinerea de linii consangvinizate homozigote necesare cercetărilor şi nici nu este posibil ca el să fie menţinut într-un mediu standard de tipul celui folosit la plante sau animale.

O dificultate importantă a cercetărilor de genetică umană o constituie timpul îndelungat, aproximativ 30 de ani, dintre o generaţie şi alta. În acelaşi timp fecunditatea redusă a familiilor, la unul sau cîţiva copii, îngreuiază cercetările de genetică, pentru care sînt necesare organisme care se reproduc repede şi în număr mare, astfel ca rezultatele să poată fi interpretate statistic.

În sfîrşit, trebuie arătat că chiar atunci cînd este dovedită existenţa unor gene dăunătoare care duc la apariţia de maladii sau malformaţii ereditare, nu este posibilă întotdeauna luarea de măsuri de limitare a reproducerii sau de sterilizare.

Ţinîndu-se seama de toate aceste dificultăţi, pentru cercetările de genetică umană au fost elaborate metode speciale, cum sînt : studiul genealogic al descendenţei (metoda pedigreului), studiul gemenilor monozigoţi, studiul familiilor consangvine etc.

### STUDIUL GENEALOGIC AL DESCENDENŢEI

Cu ajutorul *metodei de studiu genealogic al descendenţei* s-a reuşit să se descopere modul de transmisie dominant sau recesiv al unor caractere normale, maladii şi malformaţii ereditare.

Un capitol de mare importanţă al cercetărilor de genetică umană îl constituie *studiul maladiilor şi malformaţiilor ereditare*, întrucît depistarea cazurilor patologice şi a purtătorilor normali heterozigoţi poate permite prevenirea apariţiei unor descendenţi anormali şi poate duce în general la reducerea frecvenţei maladiilor ereditare.

Scanned with OKEN Scanner

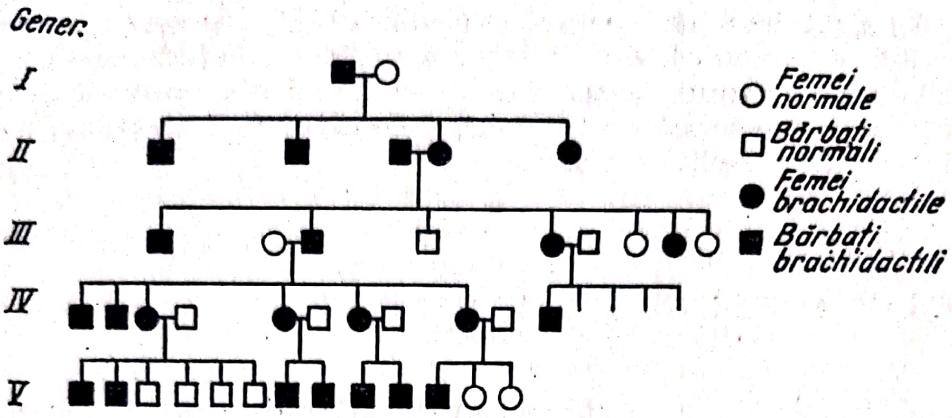



Fig. 211. Transmisia ereditară a brachidactiliei, malformație dominantă în cursul a 5 generații (după Rostand, 1965).

Printre maladiile și malformațiile *dominante* pot fi citate : icterul hemolitic ereditar, hemeralopia, prognatismul, polidactilia, brachidactilia, sindactilia etc., iar printre cele *recesive* pot fi amintite : hemofilia, daltonismul, albinismul, ichtiozisul congenital, diabetul insipid, fenilcetonuria, idioția infantilă amaurotică, luxația congenitală a șoldului etc.

O maladie ereditară care se transmite dominant este *hemeralopia*, care constă într-o diminuare a capacității vizuale în special în timpul nopții. Studiul familiei *Nougaret* în Franța, începînd din anul 1637, dată la care a fost identificat primul individ hemeralop, pe parcursul a 9 generații a arătat că ea se transmite dominant și că numărul de indivizi hemeralopi de-a lungul generațiilor pînă în secolul al XIX-lea a fost de 134.

Un alt exemplu de malformație ereditară dominantă este *prognatismul*, prin care se înțelege o mărire anormală a nasului și a buzei infe-

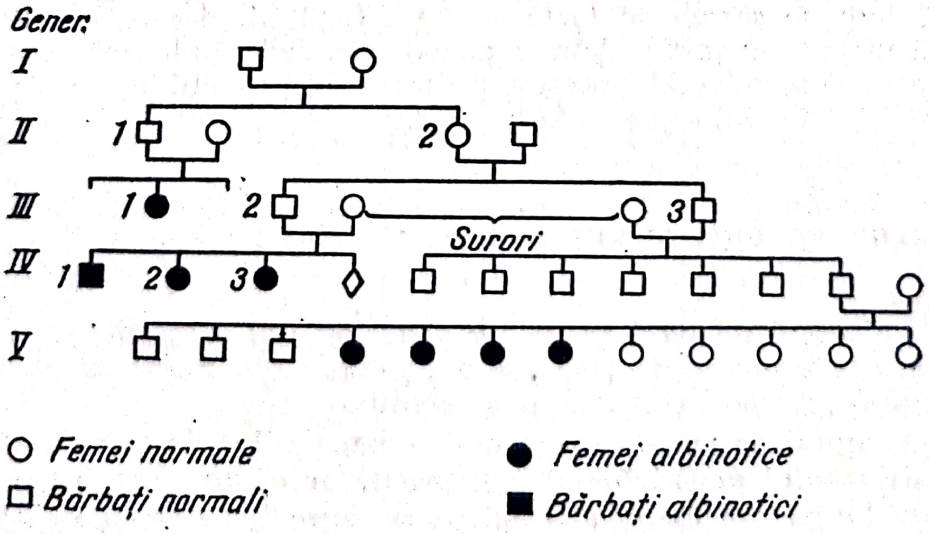



Fig 212. Ereditatea albinismului, maladie recesivă, într-o familie în cursul a 5 generații (după Lamy, 1952).

rioare, aplatizarea transversală a craniului etc. Această malformație a fost remarcată prima oară la împăratul *Carol V de Habsburg* și transmisia sa a fost urmărită pe parcursul a 3 secole și 9 generații.

Studiul modului de transmisie ereditară a maladiilor și malformațiilor dominante a arătat că :

*1.* întotdeauna unul ditre părinți, mamă sau tată, prezintă maladia sau malformația respectivă ;

*2.* din numărul total al fraților și surorilor aproximativ jumătate prezintă caracterul respectiv ;

*3.* în descendența indivizilor normali dintr-o astfel de familie, nu apar decît descendenți sănătoși.

Analizînd genetic acest mod de transmisie, se constată că este vorba de ereditatea unui caracter dominant în cazul încrucișării între un individ normal *(d d)* și unul heterozigot *(D d)* care prezintă caracterul respectiv. $D\,d \times d\,d \longrightarrow 50\%\ D\,d + 50\%\ d\,d$. Trebuie subliniat că în cazul încrucișării între un individ heterozigot care prezintă caracterul respectiv și unul sănătos, chiar în cazul schimbării partenerului sănătos se obține un același rezultat. De pildă, este cunoscut cazul unei femei (citat de M. Lamy, 1965) care prezenta *icter hemolitic ereditar*, maladie ce se transmite dominant, care din prima căsătorie cu un bărbat sănătos a avut 2 copii cu icter hemolitic, iar dintr-o a doua căsătorie tot cu un bărbat sănătos, a mai avut un copil ce prezenta icter hemolitic.

Numeroase caractere normale și patologice umane se transmit însă recesiv. Printre acestea pot fi citate : culoarea roșie a părului, culoarea albastră a ochilor, albinismul etc.

În ceea ce privește *culoarea roșie a părului* s-a constatat că acesta este un caracter recesiv (*r r*), care se transmite la descendenți conform legilor mendeliene în cazul unei perechi de caractere. Din căsătoria între 2 indivizi cu părul roșu ($r\ r \times r\ r$) rezultă în descendență exclusiv copii cu părul roșu. Dacă însă se căsătoresc un individ cu părul roșu (*r r*) cu unul cu părul negru (homozigot sau heterozigot) (*R R* sau *R r*), există două posibilități privind segregarea în descendență :

*a)* $r\ r \times R\ R = 100\%\ R\ r$

*b)* $r\ r \times R\ r = 50\%\ r\ r + 50\%\ R\ r$

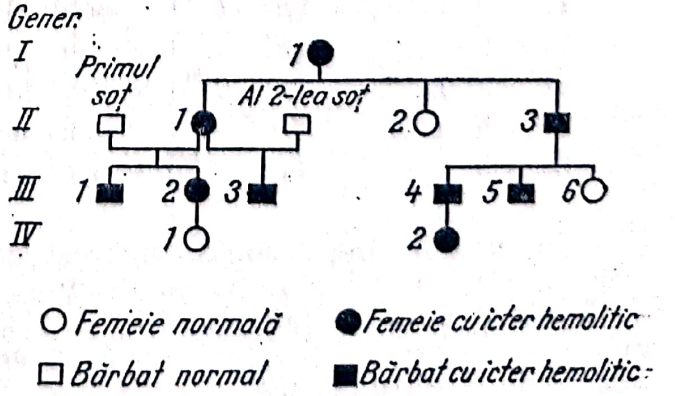



Fig. 213. Transmisia ereditară a icterului hemolitic de către o femeie ce a avut copii din două căsătorii cu bărbați sănătoși (după Lamy, 1952).

În primul caz, cînd ambii genitori sînt homozigoți, unul cu gene recesive (*r r*) și unul cu gene dominante (*R R*), toți copiii vor fi heterozigoți, dar vor avea exclusiv păr negru.

În al doilea caz, cînd unul dintre părinți este homozigot cu părul roșu (*r r*) și celălalt este heterozigot cu părul negru (*R r*), atunci descendența va fi jumătate cu părul roșu (*r r*) și jumătate cu părul negru heterozigot (*R r*).

În sfîrșit există și posibilitatea apariției de copii cu părul roșu din părinți heterozigoți cu părul negru :

$$R\ r \times R\ r = 75\%\ R\ r \text{ și } R\ R + 25\%\ r\ r$$

În acest caz, segregarea se va face după legile mendeliene în raport de 3 negru : 1 roșu. Desigur însă că o segregare în raporturile menționate mai sus se realizează numai statistic, atunci cînd se studiază un număr mare de familii.

*Culoarea ochilor* este un caracter complex, care variază în general în limite mari de la albastru deschis la negru închis, fiind determinată genetic așa cum a arătat studiul gemenilor monozigoți. În linii cu totul generale se poate considera că acest caracter este determinat de 3 gene, plasate în același locus, și care pot fi notate $E^{bl}$ pentru ochi albaștri, $E^{br}$ pentru ochi negri și $E^{gr}$ pentru ochi gri. Ca urmare, indivizii homozigoți $E^{bl}\ E^{bl}$ vor avea ochi albaștri, $E^{br}\ E^{br}$ vor avea ochi negri și $E^{gr}\ E^{r}$ vor avea ochi gri. Ordinea de dominanță a celor trei gene este următoarea : $E^{br} \longrightarrow E^{gr} \longrightarrow E^{bl}$. Cele trei gene interacționează în cazul indivizilor heterozigoți și dau naștere unor nuanțe intermediare. Astfel indivizii heterozigoți $E^{br}\ E^{gr}$ și $E^{br}\ E^{bl}$ au ochii negri cu diferite nuanțe de verde, căprui sau negru-deschis, iar heterozigoții $E^{gr}\ E^{bl}$ au ochii gri deschis.

În ceea ce privește culoarea albastră a ochilor, caracter recesiv, ea apare la indivizii homozigoți $E^{bl}\ E^{bl}$ proveniți din încrucișarea mai multor tipuri de genitori :

1) ochi albaștri $(E^{bl}\ E^{bl}) \times$ ochi albaștri $(E^{bl}\ E^{bl})$
2) ochi negri $(E^{br}\ E^{bl}) \times$ ochi albaștri $(E^{bl}\ E^{bl})$
3) ochi gri $(E^{gr}\ E^{bl}) \times$ ochi albaștri $(E^{bl}\ E^{bl})$
4) ochi negri $(E^{br}\ E^{bl}) \times$ ochi negri $(E^{br}\ E^{bl})$
5) ochi gri $(E^{gr}\ E^{bl}) \times$ ochi gri $(E^{gr}\ E^{bl})$

În primul rînd trebuie remarcat că nu întotdeauna din căsătoria între părinți cu ochi albaștri, copiii au exclusiv ochi albaștri. După cercetările lui W i n g e (citate după C. O. C a r t e r 1962) efectuate în Danemarca, aproximativ 2% au ochii negri și aproximativ 1% au ochii cu culori intermediare între părinți :

| Genitorii | $F_1$ | | |
|---|---|---|---|
| | ochi albaştri | ochi negri | culori intermediare |
| ochi albaştri × ochi albaştri | 625 | 12 | 7 |
| ochi albaştri × ochi negri | 317 | 322 | 9 |
| ochi negri × ochi negri | 25 | 82 | — |

Se poate deci conchide că dominaţia şi recesivitatea genelor n-au un caracter absolut, ci este într-o anumită măsură vorba de un fenomen de interacţiune a genelor alele.

Pe de altă parte trebuie remarcat că din căsătoria între indivizi heterozigoţi cu ochi negri sau cu ochi gri pot apărea cu o frecvenţă de aproximativ 25% copii cu ochi albaştri. În sfîrşit, din căsătoria între indivizi ce au ochi albaştri cu indivizi heterozigoţi cu ochi negri sau gri, în $F_1$ aproximativ 50% dintre copii vor avea ochi albaştri.

Relativ recent s-a descoperit că culoarea ochilor este influenţată şi de o genă situată pe cromozomul X. Această genă intensifică pigmentaţia închisă a ochilor mai mult la femei care posedă doi cromozomi X şi mai puţin la bărbaţi care posedă un singur cromozom X. Este vorba deci de fenomenul de sex-linkage parţial.

*Albinismul* este o maladie ereditară recesivă bine studiată, care constă în absenţa pigmentaţiei în păr, piele şi ochi. Indivizii albinotici sînt homozigoţi pentru gena *c*, fiind deci *c c*. Ei pot rezulta din trei tipuri de căsătorii :

1) Între doi indivizi albinotici ($c\,c \times c\,c = 100\%\ c\,c$)
2) Între un individ albinotic şi unul normal heterozigot ($c\,c \times C\,c = 50\%\ c\,c + 50\%\ C\,c$)
3) Între 2 indivizi normali heterozigoţi ($C\,c \times C\,c = 75\%\ C\,C$ şi $C\,c + 25\%\ c\,c$)

Dacă se ţine seama că albinismul este o maladie ereditară cu o frecvenţă redusă de aproximativ 1 la 10 000, se poate remarca că cel mai adesea copii albinotici nu rezultă din părinţi în care unul sau ambii sînt albinotici, ci din părinţi heterozigoţi. Acest fenomen observat statistic poate fi explicat cu ajutorul legii Hardy — Weinberg. Iată după M. Lamy (1965) un astfel de calcul : dacă se admite că frecvenţa albinismului într-o populaţie este 1/10 000, aceasta înseamnă că frecvenţa genei recesive *q* este 1/100 sau 0,01, deoarece produsul probabilităţilor separate $1/100 \times 1/100 = 1/10\,000$ indivizi homozigoţi albinotici *c c*.



Scanned with OKEN Scanner

Frecvența genei dominante $p$ este deci de 99/100 sau 0,99, deoarece conform legii Hardy — Weinberg $p + q = 1$. Populația este deci alcătuită astfel:

1) homozigoți dominanți $p^2 = 0{,}99 \times 0{,}99 = 0{,}98$ (98%)
2) homozigoți recesivi $q^2 = 0{,}01 \times 0{,}01 = 0{,}0001$ (0,01%)
3) heterozigoți $2\,pq = 2 \times 0{,}99 \times 0{,}01 = 0{,}0198$ (2%)

Deci probabilitatea ca un individ să fie albinotic este 1/10 000, în timp ce probabilitatea ca un individ să fie heterozigot este 1/50, adică de 200 de ori mai mare $\left(\frac{10\ 000}{50}\right)$.

Ținînd seama de frecvența albinismului, se poate constata în primul rînd că *probabilitatea căsătoriei între 2 indivizi albinotici este foarte redusă* (1/10 000 × 1/10 000 = 1/100 000 000), adică de 1 la 100 milioane. Într-adevăr, în literatura de specialitate sînt citate numai două cazuri de căsătorii între indivizi albinotici din care au rezultat copii exclusiv albinotici.

De asemenea, este destul de redusă probabilitatea căsătoriei între un individ albinotic și unul heterozigot (1/10 000 × 1/50 = 1/500 000), fiind de 1 la 500 000. În schimb *este mult mai mare probabilitatea căsătoriei între 2 indivizi heterozigoți* (1/50 × 1/50 = 1/2 500), și anume 1 la 2 500. În acest fel se poate explica de ce marea majoritate a albinoticilor rezultă din căsătorii între indivizi normali, dar heterozigoți.

Frecvența apariției albinismului crește considerabil în cazul căsătoriilor consangvine, care sînt relativ comune în unele țări. De pildă, dacă se căsătoresc între ei veri de-al doilea, în cazul că unul dintre ei este heterozigot (probabilitate 1/50), probabilitatea ca celălalt să fie, de asemenea, un heterozigot este de numai 1/8. De pildă, dacă admitem că unul dintre verii de-al doilea este heterozigot, aceasta înseamnă că el a primit gena recesivă de la tată sau de la mamă (probabilitatea 1/2). La rîndul său probabilitatea de a fi heterozigot a unchiului sau a mătușii din care provine celălalt descendent este de 1/2. În sfîrșit, probabilitatea pentru ca partenerul căsătoriei să primească gena recesivă de la părintele heterozigot este, de asemenea, 1/2. Ca urmare, probabilitatea ca un individ heterozigot să se căsătorească cu un individ, de asemenea, heterozigot, în cazul unei căsătorii între veri de-al doilea este egală cu 1/2 × 1/2 × 1/2 = 1/8.

Dacă se ține seama că probabilitatea ca un idivid să fie heterozigot este de 1/50, iar în cazul cînd se căsătorește cu o vară de-al doilea, probabilitatea ca aceasta să fie heterozigotă este de 1/8, aceasta înseamnă că la căsătoriile consangvine de acest tip frecvența apariției albinismului crește considerabil fiind de 1/400 (1/50 × 1/8 = 1/400).

Scanned with OKEN Scanner

## STUDIUL GEMENILOR MONOZIGOȚI

*Metoda studiului gemenilor monozigoți* a fost elaborată de F. Galton încă în 1876. După cum se știe, gemenii pot fi de două feluri : *monozigoți* care provin prin segmentarea aceluiași ovul după fecundație și *dizigoți* care provin din două ovule diferite. Deosebirea dintre aceste două tipuri de gemeni este considerabilă deoarece cei monozigoți provin din același ovul și spermatozoid, avînd astfel același genotip. Ca urmare, ei sînt foarte asemănători ca înfățișare, comportare etc. și au întotdeauna același sex. Gemenii dizigoți provin din 2 ovule și 2 spermatozoizi diferiți și ca urmare ei se aseamănă tot atît cît se aseamănă frații și surorile între ei, putînd avea atît același sex cît și sexe diferite.

În ceea ce privește *gemenii tripli* există trei posibilități, și anume ei pot fi : *monozigotici,* proveniți dintr-un singur ovul fecundat care se segmentează și dă naștere la 2 celule, după care una dintre ele se segmentează din nou astfel că în final rezultă 3 gemeni adevărați ; *dizigotici,* cînd ei provin din 2 ovule diferite fecundate de spermatozoizi diferiți, după care una din ele se segmentează și dă naștere la doi gemeni adevărați care au bineînțeles același sex, în timp ce al treilea poate avea același sex sau sex diferit ; *trizigotici,* cînd ei provin din trei ovule fecundate de trei spermatozoizi diferiți. La *gemenii quadrupli și quintrupli* există, de asemenea, posibilități de a proveni dintr-o singură ovulă fecundată sau din mai multe.

Ținînd seama că gemenii monozigoți sînt întotdeauna de același sex, iar cei dizigoți pot avea sau nu același sex, matematicianul francez Bertillon a elaborat în 1874 o metodă matematică de calcul al proporției sarcinilor monozigotice și dizigotice. Astfel pornind de la observația că toți gemenii de sex opus sînt dizigotici, se poate considera că un număr aproximativ egal cu acesta este format de gemeni dizigotici care au același sex, deoarece determinarea sexului se realizează pe bază de probabilitate. Dacă din totalul gemenilor se scade numărul gemenilor de sex opus înmulțit cu 2, se obține astfel numărul de gemeni monozigotici. Cu ajutorul acestei metode rapide s-a calculat că gemenii monozigotici reprezintă aproximativ 25—30% din totalul gemenilor. Mai tîrziu metoda

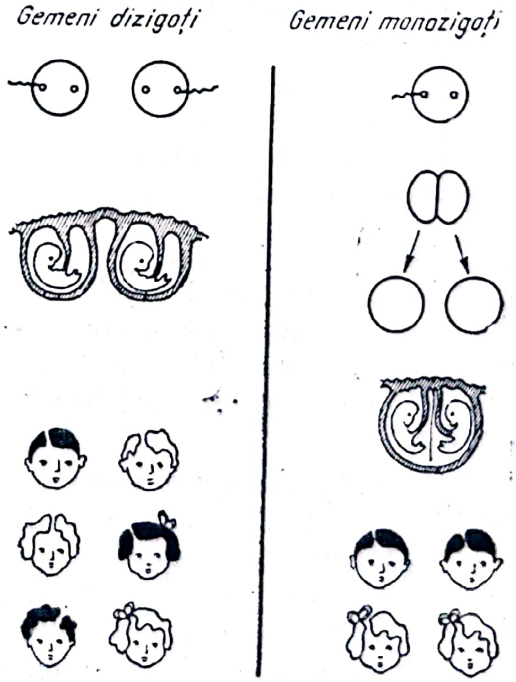



Fig. 214. Gemeni monozigoți și dizigoți (după Lamy, 1952).

a fost verificată de medicul german W. Weinberg (1902), iar în 1920 medicul olandez Siemens a elaborat o metodă de identificare a gemenilor monozigotici pe baza testării unor caractere determinate genetic, ca : sexul, culoarea și forma părului, culoarea ochilor, înălțimea, dimensiunea mîinilor, grupul de sînge etc.

Printre altele s-a determinat, de pildă, că înălțimea indivizilor este determinată genetic. Studiile efectuate de H. H. Newman, F. N. Freeman, H. J. Holzinger (1947) de la Universitatea din Chicago, asupra a 100 gemeni monozigoți, 104 gemeni dizigoți de același sex și la 104 frați au arătat că : diferența medie între înălțimea medie a gemenilor monozigoți a fost foarte mică, de numai 0,67 inci [1], în timp ce aceeași diferență la gemenii dizigotici a fost de 1,73 inci, iar la frați de 1,77 inci.

Iată după C. O. Carter (1962) cîțiva coeficienți de corelație pentru unele caractere la 100 gemeni monozigoți și 100 gemeni dizigoți :

| Caracterul studiat | gemeni monozigoți | gemeni dizigoți |
|---|---|---|
| greutatea corpului | + 0,93 | + 0,65 |
| înălțimea | + 0,92 | + 0,63 |
| testul de inteligență Binet | + 0,86 | + 0,60 |
| testul de inteligență Otis | + 0,92 | + 0,62 |
| viteza de scris la mașină | + 0,69 | + 0,38 |

Pe această bază se poate determina care caractere sînt determinate genetic și care nu. De pildă, cercetările de genetică prin metoda studiului gemenilor monozigoți au demonstrat că *tuberculoza* nu este o maladie ereditară, ci este infecțioasă. Ulterior s-a dovedit că există o sensibilitate și o receptivitate la bacilul Koch, care este determinată genetic.

În mod similar s-a dovedit că *debilitatea mintală* are un caracter ereditar. De pildă, într-un studiu efectuat asupra a 6 700 debili mintali identificați în Danemarca, un număr de 66 prezentau un frate sau o soră gemănă. Dintre aceștia un număr de 50 perechi de gemeni erau dizigoți, dintre care numai 4 perechi erau debili mintali. Din restul de 16 perechi de gemeni monozigoți, un număr de 14 perechi erau debili mintali.

[1] Unitate engleză de măsură, egală cu 2,54 cm.

Scanned with OKEN Scanner

## STUDIUL FAMILIILOR CONSANGVINE

Metoda studiului familiilor consangvine este, de asemenea, o cale de punere în evidenţă a unor gene recesive, care prin consangvinizare pot ajunge cu o probabilitate mai mare în stare homozigotă. În trecut mai ales proporţia căsătoriilor între rude mai mult sau mai puţin apropiate era relativ mare, după cum lipsa mijloacelor de comunicaţie contribuia, de asemenea, la existenţa unor *populaţii endogame*, izolate, în care consangvinizarea era destul de puternică. Studiul statistic al acestor populaţii endogame, comparativ cu cele *exogame*, a contribuit la descoperirea unor maladii şi malformaţii ereditare, care prezintă evident o frecvenţă mai mare în cazul populaţiilor cu un grad mai mare de consangvinizare.

În ultima vreme însă, metoda are o aplicabilitate mai redusă, pe de o parte, din cauza reducerii căsătoriilor consangvine, iar, pe de alta, datorită reducerii numărului de populaţii endogame. Aceasta a contribuit considerabil la diminuarea frecvenţei maladiilor şi malformaţiilor ereditare, precum şi la apariţia heterozisului — caracteristic populaţiilor exogame — fenomen manifestat printre altele prin creşterea taliei.

## CARIOTIPUL UMAN

În 1956 J. H. T j i o şi A. L e v a n au descoperit că numărul de cromozomi umani este $2n = 46$, din care 22 perechi de *autozomi* şi o pereche de *cromozomi sexuali* (heterozomi) notaţi cu X X la femeie şi X Y la bărbat. Deoarece cromozomii umani sînt foarte variabili în ceea ce priveşte dimensiunile şi forma, s-a simţit nevoia unui sistem de clasificare standard. În acest scop, un grup de geneticieni s-a reunit în localitatea Denver din Colorado şi au elaborat un sistem de clasificare a cromozomilor umani după dimensiuni (foarte mari, mijlocii, mici, foarte mici), după tip (metacentrici, submetacentrici, acrocentrici), după prezenţa sateliţilor etc.

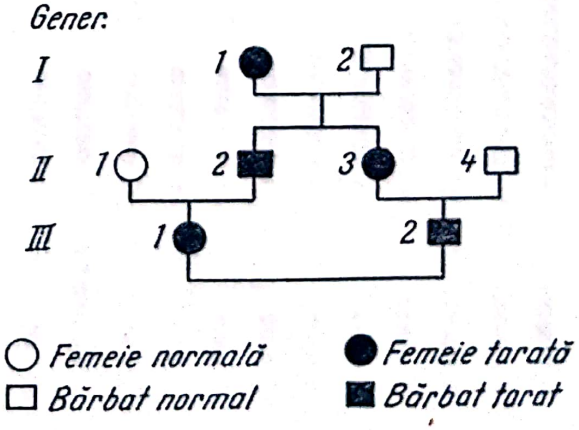



Fig. 215. Creşterea frecvenţei maladiilor ereditare prin căsătoria între veri primari heterozigoţi.

După *sistemul Denver*, completat și ameliorat ulterior, cromozomii umani pot fi clasificați astfel :

— Cromozomii 1—3 (grupul A) sînt cei mai mari, au centromerul aproape median (metacentrici) și se pot relativ ușor deosebi unul de altul prin mărime și poziția centromerului.

— Cromozomii 4—5 (grupul B) sînt mari, au centromerul submedian și sînt relativ greu de deosebit, deși cromozomul 4 este puțin mai lung ca cromozomul 5.

— Cromozomii 6—12 (grupul C) prezintă cele mai mari dificultăți de identificare individuală. Ei sînt mijlocii ca lungime și au centromerul submedian. Din acest grup cromozomul 6 este cel mai lung, urmat în ordine de ceilalți. Trebuie menționat că cromozomul 6 poate fi ușor confundat cu cromozomul X, cu care se aseamănă foarte mult.

— Cromozomii 13—15 (grupul D) au dimensiuni medii, sînt acrocentrici — adică au centromerul excentric — și se pot relativ ușor deosebi unul de altul : cromozomul 13 are un satelit mare pe brațul scurt, cromozomul 14 are un satelit foarte mic pe brațul scurt, iar cromozomul 15 este lipsit de satelit.

— Cromozomii 16—18 (grupul E) sînt relativ scurți și au centromerul median (cromozomul 16) sau submedian (cromozomii 17 și 18).

— Cromozomii 19—20 (grupul F) sînt scurți și aproape metacentrici.

— Cromozomii 21—22 (grupul G) sînt foarte scurți și acrocentrici. Cromozomul 21 se poate ușor distinge prin prezența unui satelit pe brațul scurt.

— Cromozomii sexului X și Y sînt foarte diferiți ca mărime : cromozomul X face parte din grupul celor mijlocii ca dimensiuni, este submetacentric și seamănă cu cromozomul 6 ; cromozomul Y este foarte scurt, acrocentric și seamănă cu cromozomul 22. Cromozomul X are o lungime de 4—5 μ, în timp ce cromozomul Y este mult mai scurt, avînd numai 1,5 μ.

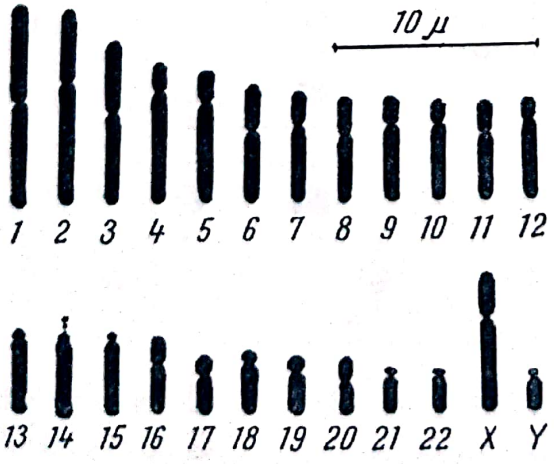



Fig. 216. Cariotipul uman (2 $n = 46$).

Scanned with OKEN Scanner

Determinarea genetică a sexului la om se face după *tipul Drosophila,* femeia avînd 22 perechi de autosomi plus XX, iar bărbatul 22 perechi de autosomi plus XY. Ca urmare, fiicele primesc un cromozom X de la mamă și un cromozom X de la tată, iar fiii primesc cromozomul X de la mamă și cel Y de la tată. Pe această bază se realizează în descendență raportul de aproximativ 1 : 1 între sexe.

## MALADII EREDITARE LEGATE DE CROMOZOMII SEXULUI

Cercetările de genetică umană au dus la identificarea unor maladii ereditare care se manifestă preponderent la un anumit sex. Studiul acestor maladii a demonstrat că este vorba de mutații, de obicei recesive, ale unor gene de pe cromozomul sexual X.

După cercetările lui V. A. Mc Kusick (1962) numărul mutațiilor legate de cromozomul X este de 58, din care cea mai comună este cea care determină apariția daltonismului, maladie ereditară care apare la 5—8% la bărbați și 0,5% la femei. Pe lîngă aceste 58 de mutații există încă un număr de 21, pentru care nu s-a stabilit încă precis dacă fac parte din aceeași grupă de linkage a cromozomului X.

*Printre cele mai cunoscute și bine studiate maladii ereditare recesive ce se transmit legate de cromozomul sexual X sînt daltonismul și hemofilia.*

*Daltonismul* este o maladie ereditară care constă în incapacitatea de a deosebi culorile roșu de verde, fapt care prezintă inconveniente serioase pentru șoferi, aviatori, mecanici de locomotivă etc. Denumirea acestei maladii vine de la numele medicului scoțian John Dalton care suferea de această boală și care a descris perfect tulburările provocate de ea. În ceea ce privește modul de moștenire al maladiei s-a constatat că tatăl nu transmite niciodată fiilor această anomalie, în timp ce mama o poate transmite la jumătate dintre ei. Fenomenul se explică prin faptul că gena recesivă care determină caracterul daltonismului se află pe heterocromozomul X. Un tată daltonian (X d Y) căsătorit cu o femeie

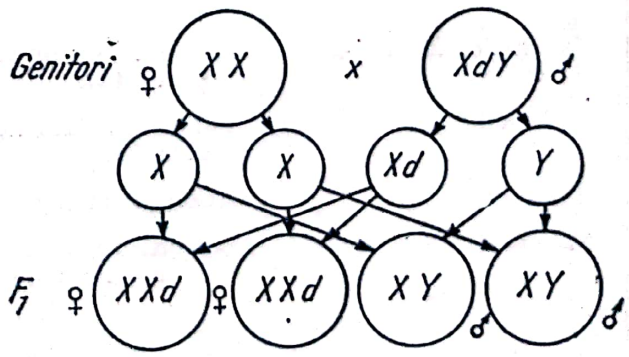



Fig. 217. Transmisia ereditară a daltonismului în cazul unei căsătorii între o femeie sănătoasă (X X) și un bărbat daltonian (X d Y).

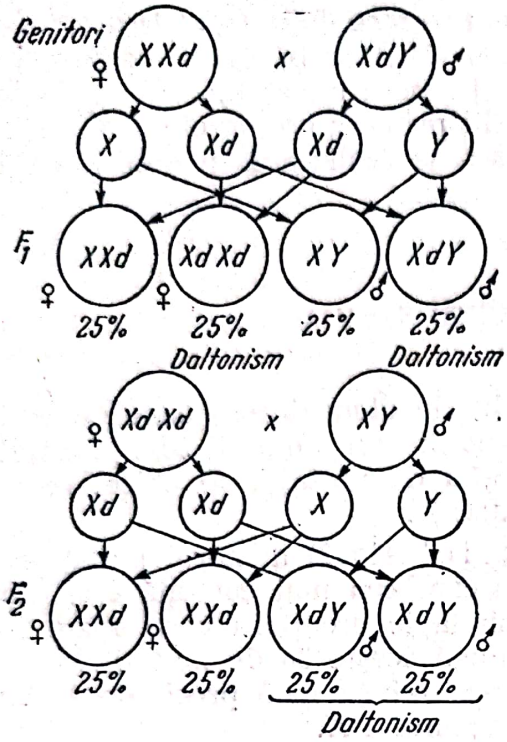



Fig. 218. Idem în cazul unei căsătorii între o femeie normală heterozigotă (X d X) și un bărbat daltonian (X d Y).

normală (X X) va avea fiice heterozigote (X d X) aparent normale și fii normali (X Y) întrucît cromozomul X la băieți provine de la mamă. O femeie heterozigotă (X d X) căsătorită cu un bărbat normal (X Y) va avea 25% fiice heterozigote (X d X), 25% fiice homozigote normale (X X), 25% fii normali (X Y) și 25% fii daltonieni (X d Y). Dacă o femeie heterozigotă, aparent normală (X d X), se căsătorește cu un bărbat daltonian (X d Y), descendența lor va fi formată astfel: 25% fiice homozigote daltoniene (X d X d), 25% fiice heterozigote aparent normale (X d X), 25% fii daltonieni (X d Y) și 25% fii normali (X Y). În sfîrșit, dacă o femeie homozigotă daltoniană (X d X d) se căsătorește cu un bărbat normal (X Y) va avea toți fiii daltonieni (X d Y) și fiicele heterozigote aparent normale (X d X). Numeroși arbori genealogici studiați au probat realitatea acestor previziuni.

**PRINCIPALELE MUTAȚII CARE SE OBSERVĂ LA OM**

| Mutația | Efectul asupra organismului | Frecvența mutațiilor la gameți | Frecvența mutațiilor în % |
|---|---|---|---|
| *Dominante* | | | |
| Anomalia Pelger | Globulele sanguine albe anormale — rezistență redusă la boli | 1/12 500 | 0,0080 |
| Nanism condrodistrofic | Picioare și brațe deformate și scurtate | 1/14 300 | 0,0070 |
| Retinoblastom | Tumori localizate în retina ochiului | 1/43 500 | 0,0023 |
| Aniridie | Absența irisului la ochi | 1/200 000 | 0,0005 |
| Epiloia | Leziuni roșii pe față, tumori în creier, rinichi și inimă | 1/83 000 | 0,0012 |

| Mutaţia | Efectul asupra organismului | Frecvenţa mutaţiilor la gameţi | Frecvenţa mutaţiilor, în % |
|---|---|---|---|
| *Recesive* | | | |
| Albinism | Melanina nedezvoltată în păr, piele şi iris | 1/35 700 | 0,0027 |
| Idioţie infantilă | Deteriorarea facultăţilor mintale în primele luni | 1/90 909 | 0,0011 |
| Ihtiozis congenital | Piele solzoasă, aspră, putînd cauza moartea copilului | 1/90 909 | 0,0028 |
| Daltonism | Dificultatea de a distinge culorile | 1/35 700 | 0,0028 |
| Hemofilie | Coagularea f. lentă a sîngelui | 1/31 250 | 0,0032 |

O altă maladie ereditară ce se transmite legată de cromozomii X ai sexului este *hemofilia.* Ea constă în lipsa enzimei coagulante din sînge, ceea ce face ca orice fel de hemoragie, oricît ar fi ea de uşoară, să fie extrem de greu stăvilită. S-a constatat că această boală este transmisă de femeile heterozigote prin intermediul cromozomului X. Căsătoria unei femei heterozigote (X h X) cu un bărbat normal (X Y) va da în proporţii egale fiice normale (X X) şi fiice heterozigote (X h X) aparent normale şi jumătate din fii normali (X Y) şi jumătate hemofilici (X h Y). Dacă un bărbat hemofilic (X h Y) se căsătoreşte cu o femeie normală (X X), copiii vor fi toţi normali, fiicele însă sînt heterozigote (X h X) şi transmiţătoare ale bolii în timp ce fiii, primind cromozomul X de la mamă, vor fi cu toţi normali. Căsătoria între o femeie heterozigotă aparent normală (X h X) şi un bărbat hemofilic (X h Y) va da jumătate din fiice hemofilice homozigotice (X h X h) şi jumătate din fiice heterozigote, dar aparent normale, jumătate din fii normali (X Y) şi jumătate hemofilici

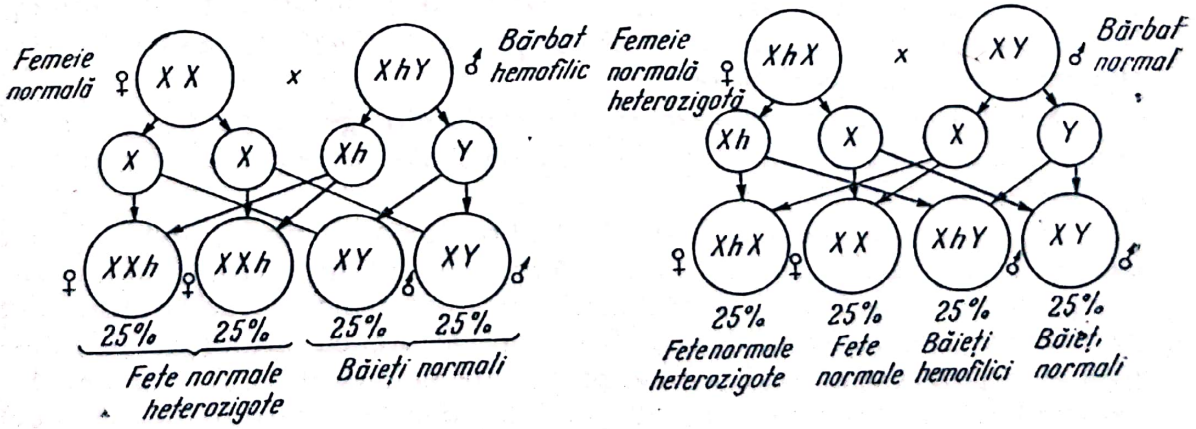



Fig. 219. Transmisia ereditară a hemofiliei în cazul unei căsătorii între o femeie normală (X X) şi un bărbat hemofilic (X h Y).

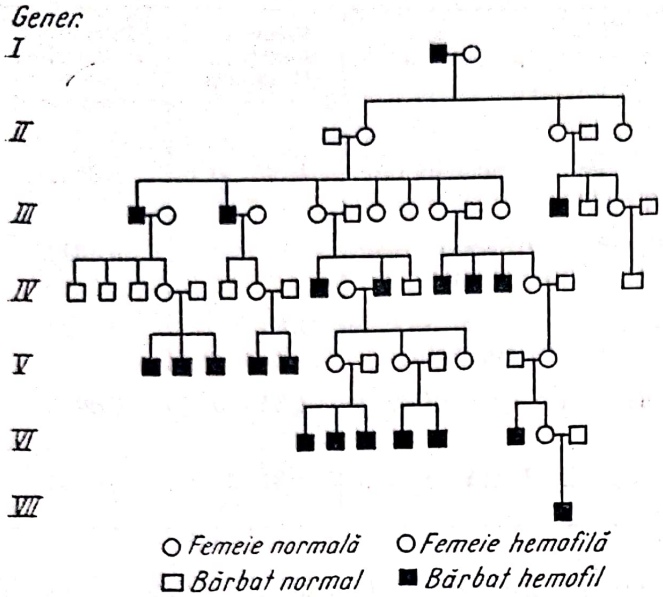



Fig. 220. Ereditatea hemofiliei într-o familie în cursul a 7 generații (după Rostand, 1965).

(X h Y). Studiul a peste 200 de genealogii au verificat realitatea acestor presupuneri. S-a constatat totodată că femei hemofilice nu există, de unde s-a tras concluzia că prezența cromozomilor X h X h în stare homozigotă este letală sau semiletală și duce la moartea timpurie a organismelor care le poartă.

Mecanismul ereditar de transmitere al hemofiliei prin intermediul unei gene recesive de pe cromozomul X a fost pus în evidență prin studiul arborelui genealogic al unor familii numeroase. De pildă, în familia M e m p e l în care era prezentă această genă recesivă s-au studiat mai multe generații care însumau 213 persoane, iar în familia H o s s l i s-au studiat 400 persoane. Astfel cercetările lui W. J. K l u g (1926) efectuate asupra familiei Mempel din Germania au arătat că din 52 persoane pe care el le-a studiat aparținînd la 5 generații (restul familiei emigrînd în America) a remarcat prezența hemofiliei la 20 de băieți și la nici o fată. În toate cazurile maladia s-a transmis prin intermediul femeilor heterozigote, și nu prin al bărbaților.

Studiul modului în care se transmit din generație în generație asemenea maladii ereditare a dovedit prezența fenomenelor de *linkage și crossing-over la om.*

O. v o n W e r s c h n e r și W. R a t h (1938) au pus în evidență un caz în care se manifestă fenomenul de crossing-over între cele două maladii ereditare, daltonismul și hemofilia. Ei au studiat patru frați, dintre care primul era hemofilic, al doilea daltonian, al treilea hemofilic și daltonian și al patrulea normal. Mama, purtătoare pe cromozomul X al ambelor caractere patologice era aparent normală, dar heterozigotă, iar bunicul pe linie maternă era hemofilic, dar nu și daltonian. Mama celor patru frați primise deci de la tatăl său cromozomul X, care purta gena ce de-

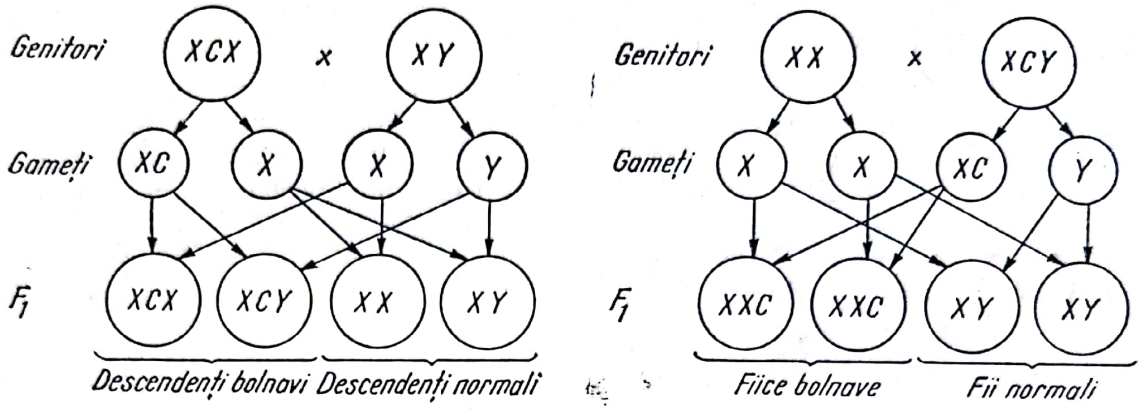



Fig. 221. Mecanismul transmisiei cheratozei foliculare, maladie ereditară provocată de o genă dominantă plasată pe cromozomul X.

termina hemofilia, și de la mama sa celălalt cromozom X care purta gena daltonismului. Dacă la această femeie nu s-ar fi produs crossing-overul, ea ar fi trebuit să dea naștere unor fii care erau fie hemofilici, fie daltonieni. Apariția însă a fiului care prezenta ambele caractere (hemofilic și daltonian) trăda tocmai producerea crossing-overului în timpul diviziunii meiotice a celulelor sexuale materne.

Pe lîngă numeroasele gene recesive există, de asemenea, *un număr redus de gene dominante pe cromozomul X*. O astfel de genă este cea care determină apariția maladiei ereditare *cheratoză foliculară*, care constă în căderea bărbii și a părului etc. Studiul unei familii din Germania, efectuat de H. W. Siemens (1924), a arătat că două femei ce prezentau maladia, căsătorite cu bărbați sănătoși, au avut o parte din copii, atît fete cît și băieți, atinși de această maladie. În aceeași familie doi bărbați ce prezentau maladia s-au căsătorit cu femei normale și au avut o descendență formată astfel : toți băieții erau normali și toate fetele prezentau maladia. Acest tip de transmisie a caracterelor de la tată la fiice este cunoscut sub denumirea de *ereditate încrucișată*.

Generalizînd cazurile studiate, se poate conchide că prin căsătoria unei femei bolnave heterozigote (X C X) cu un bărbat sănătos (X Y) rezultă 50% copii bolnavi, atît băieți cît și fete și 50% copii sănătoși. Din căsătoria unui bărbat bolnav (X C Y) cu o femeie sănătoasă, în descendență toate fiicele sînt bolnave și toți fiii sînt sănătoși.

În sfîrșit există posibilitatea transmiterii ereditare a unei *maladii sau malformații ereditare legate de cromozomul Y*. Astfel, pe cromozomul Y există o genă care determină apariția unei malformații cunoscute sub denumirea de *hipertrichoza urechilor*, ce constă în apariția unor peri lungi și negri pe suprafața anterioară și pe jumătate din suprafața posterioară a urechii. Studiul genealogic al mai multor familii a arătat că numai bărbații sînt atinși de această malformație, iar transmiterea ei se face

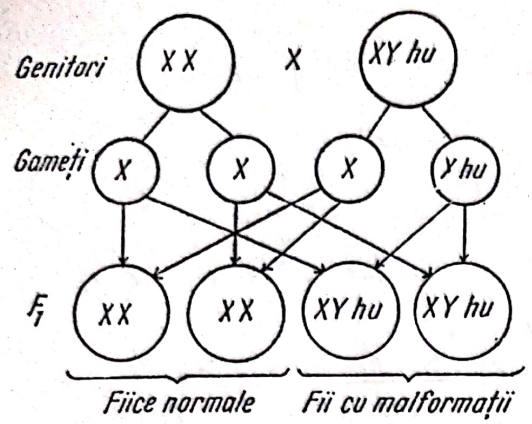



Fig. 222. Ereditatea holandrică în cazul hipertrichozei urechilor, malformație produsă de o genă plasată pe cromozomul Y.

numai de la tată la fii, adică exclusiv pe linie masculină. Acest tip de moștenire a caracterelor se cheamă *ereditate holandrică* (holos — total, andros — om).

## MALADII CROMOZOMIALE

Dezvoltarea normală a organismului uman este corelată de prezența în celulele sale somatice a celor 2 $n = 46$ cromozomi. Orice abatere în plus sau în minus de la acest număr normal, precum și orice modificări cromozomiale de tipul deleției, duplicației, translocației, inversiei etc. înseamnă un dezechilibru morfofuncțional al organismului și apariția unor maladii mai mult sau mai puțin grave.

Fenomenul aneuploidiei, prin care organismul prezintă unul sau mai mulți cromozomi în plus sau în minus (nulisomie, monosomie, trisomie, tetrasomie etc.) se manifestă și la om, legat atît de autosomi cît și de heterosomi. Cercetările efectuate după anul 1956, cînd s-a descoperit numărul exact de cromozomi ai omului, au reușit să pună în evidență mai multe *maladii cromozomiale*.

*Mongolismul sau sindromul lui Down*, este o maladie care a fost descoperită încă din a doua jumătate a secolului al XIX-lea de către medicul englez L a n g d o n D o w n. Indivizii mongolieni au o talie redusă, o figură specifică, degete mai scurte, malformații ale inimii, fertilitate redusă și prezintă o puternică înapoiere psihică (imbecilitate sau idiotism). Frecvența acestei maladii sporește cu vîrsta mamei, fiind de 1/3 000 pentru mamele de 20 de ani, 1/100 pentru cele de 40 de ani și 1/50 pentru cele de 45 de ani.

R. T u r p i n, J. L e j e u n e și M. G a u t i e r (1959) au descoperit că indivizii mongolieni au 2 $n = 47$ datorită fenomenului de trisomie pentru cromozomul 21, fapt pentru care această maladie mai este cunoscută și sub denumirea de *trisomie 21*. Cauza apariției trisomiei rezidă în *non disjuncția cromozomilor din perechea 21* în cursul meiozei fapt pentru

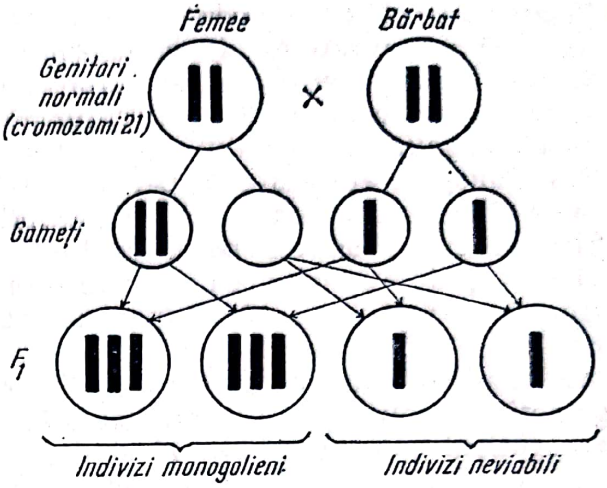



Fig. 223. Mecanismul apariției mongolismului (2 $n$ = 47) prin nondisjuncția cromozomilor 21.

care se formează gameți care au ambii cromozomi ai perechii 21 și alții care n-au nici unul. Prin unirea în procesul fecundației a acestor gameți cu gameți normali — care prezintă un singur cromozom 21 — rezultă indivizi trisomici (2 $n = 47$) mongolieni și indivizi monosomici (2 $n = 45$) care probabil sînt neviabili. Faptul că frecvența mongolismului crește cu vîrsta mamei a dus la presupunerea că nondisjuncția cromozomilor din perechea 21 se datorește acumulării în timp a unor produși vătămători de metabolism în celulele femeilor.

În sprijinul tezei că mongolismul este o maladie cu determinare genetică au intervenit următoarele două categorii de fapte : mai întîi s-a constatat la o femeie mongoliană care a făcut copii că din cei 6 copii studiați, 3 copii prezentau, de asemenea, acest sindrom. În al doilea rînd s-au descoperit monozigoți care prezentau ambii sindromul respectiv.

Mongolismul se poate datora nu numai nondisjuncției cromozomilor 21, ci și *fenomenului de translocație între cromozomii 15 și 21.*

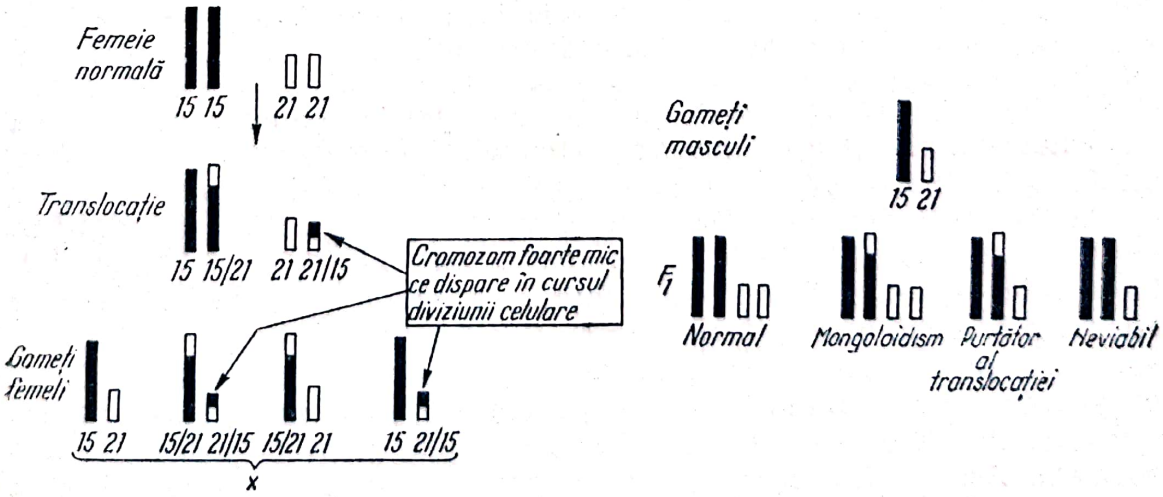



Fig. 224. Apariția mongolismului (2 $n$ = 46) prin translocație.

Relativ recent s-a descoperit o variantă a mongolismului în care însă indivizii nu aveau 47 de cromozomi, ci 2 $n = 46$. Studiul citologic al acestor cazuri a arătat că un cromozom din perechea 15 este mai lung decît normal, cam cu atît cît reprezintă lungimea cromozomului 21. Indivizii mongolieni respectivi aveau însă doi cromozomi normali 21. Cercetări citologice efectuate la părinţi, care erau complet normali, au arătat că de obicei mamele au 2 $n = 45$, avînd un singur cromozom din perechea 21 şi un cromozom din perechea 15 mai lung. Pe această bază s-a conchis că s-a produs o translocaţie între cromozomul 15 şi 21, formîndu-se un cromozom mai mare 15/21 (pereche cu cromozomul 15) şi un cromozom mai mic 21/15 (pereche cu cromozomul 21), dar care dispare în cursul diviziunii celulare sau al fecundării. Prin unirea unor astfel de gameţi cu gameţi normali apar în urma fecundării atît indivizi normali cît şi indivizi mongolieni care au 2 $n = 46$ şi un cromozom mai lung în perechea 15. De asemenea, s-a constatat că indivizii care au 2 $n = 45$ şi un cromozom din perechea 15 mai lung sînt normali, transmiţători ai translocaţiei, în timp ce indivizii care au 2 $n = 45$, datorită absenţei unui cromozom din perechea 21 sînt neviabili.

*Trisomia 13—15* este o altă maladie cromozomială, caracterizată prin aceea că în celule există 2 $n = 47$ datorită unui cromozom în plus din grupul 13—15. Această maladie este corelată cu prezenţa unor malformaţii grave la membre, la faţă şi la inimă ; avînd un caracter semiletal, indivizii pier de obicei în cursul primilor ani de viaţă.

*Trisomia 18* este o maladie cromozomială, la care indivizii au 2 $n = 47$ datorită prezenţei unui cromozom în plus din perechea 18. Această maladie este, de asemenea, corelată cu malformaţii grave, fapt pentru care indivizii respectivi pier precoce.

Pe lîngă aceste maladii cromozomiale legate de autosomi există o seamă de *maladii cromozomiale de tipul aneuploidiei care afectează cromozomii sexuali*. Astfel, *sindromul Klinefelter* se manifestă la indivizii masculi care au trei cromozomi sexuali (X X Y), datorită prezenţei unui cromozom X suplimentar. Această maladie cromozomială apare cu frecvenţa de 1/400 la nou-născuţii de sex masculin şi se concretizează prin obezitate excesivă, dezvoltarea anormală a mamelelor, atrofia testiculelor, sterilitate completă şi o serie de afecţiuni psihice corelate cu ele. La majoritatea indivizilor cu sindrom Klinefelter numărul total de cromozomi este de 2 $n = 47$. În urma analizei unui caz de sindrom Klinefelter corelat cu daltonism s-a constatat că apariţia unei astfel de garnituri cromozomice anormale se datoreşte *nondisjuncţiei celor doi cromozomi X în ovulele materne*. Se cunoaşte faptul că daltonismul este o maladie ereditară recesivă care se transmite cu cromozomul X şi se manifestă numai în stare homozigotă. În mod necesar s-a tras concluzia că bolnavul nu poate moşteni daltonismul decît prin producerea unei nondisjuncţii a cromozomilor X în ovulul matern, întrucît tatăl şi mama aveau vederea normală. Aceasta înseamnă că cromozomii X provin de la mamă, care era heterozigotă.

Scanned with OKEN Scanner

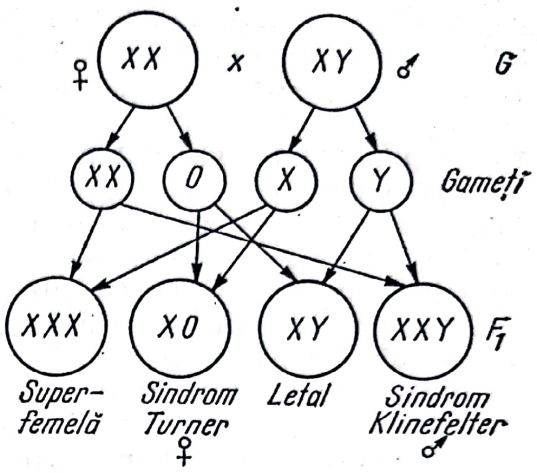



Fig. 225. Mecanismul apariției unor maladii cromozomiale prin nondisjuncția cromozomilor X.

În culturi de celule recoltate de la diferiți bolnavi s-au descoperit și garnituri cromozomiale de tipul 44 A + X X X Y (2 n = 48) și 44 A + + X X X X Y (2 $n$ = 49) și deși numărul cromozomilor X în asemenea cazuri este mult sporit, indivizii analizați prezentau caracterele sexului masculin, însă erau sterili.

Datorită nondisjuncției cromozomilor sexului pot apărea deci ovule cu doi cromozomi X care dau naștere unor zigoți cu afecțiuni ca cele de mai sus sau ovule în care să lipsească cromozomul X. Din fecundarea unei astfel de ovule cu un spermatozoid normal purtător al unui cromozom X pot apărea organisme X O (2 $n$ = 45). Într-adevăr la femei prezentînd sindromul Turner, care se manifestă prin sterilitate și printr-o serie de afecțiuni ale caracterelor sexuale secundare, s-a descoperit acest tip de cromozomi sexuali. La bolnavele respective, modificarea în garnitura cromozomilor sexului este corelată și cu absența cromatinei sexuale (a corpusculilor Barr). De cele mai multe ori, această afecțiune este însoțită și de un accentuat dereglaj psihic.

Un al treilea tip de maladii cromozomiale datorate nondisjuncției cromozomilor X este cel care duce la apariția așa-numitelor *superfemele* care au trei cromozomi X și 2 $n$ = 47. Astfel de indivizi au aspect feminin, sînt sterili și debili mintali.

Deși teoretic se poate presupune că din unirea unei ovule anormale lipsite de cromozom X cu un spermatozoid purtător de cromozom Y ar trebui să se formeze organisme Y O cu 2 $n$ = 45, astfel de cazuri nu au fost semnalate, ceea ce a dus la concluzia că acest tip de garnitură cromozomiale este letală.

Tot studiile de citogenetică umană au mai relevat un fenomen important și destul de frecvent, și anume prezența așa-numitelor *mozaicuri cromozomiale*. Este vorba de coexistența, la același organism a două sau mai multe tipuri de garnituri cromozomiale în celulele corpului. Apariția acestei anomalii se explică tot prin nondisjuncția unor cromozomi, dar de

data aceasta nu în procesul de meioză, ci în cursul diviziunii mitotice a celulelor somatice, puțin după fecundarea ovulei. Mozaicuri cromozomiale au fost descrise atît în sindromul Down cît și în diverse boli corelate cu modificarea garniturilor cromozomilor sexului și depistarea lor se efectuează prin metode citologice de diagnostic folosite în mod curent.

Dezvoltarea cercetărilor de citogenetică umană va aduce, fără îndoială, contribuții și în alte domenii, cum este, de pildă, depistarea aberațiilor cromozomiale, îndeosebi cele privind așa-numitele *translocații*. Primele cercetări în această direcție au fost efectuate de J. Lejeune în 1959, care a descris la un băiat suferind de debilitate mintală și anomalia congenitală a coloanei vertebrale, prezența a numai 45 de cromozomi dintre care unul era mai lung decît omologul său. Lejeune a presupus că lungimea neobișnuită a acestui cromozom se datora adiției unui fragment de la cromozomul absent prin *translocație*, restul cromozomului respectiv pierzîndu-se. Aberații cromozomiale de tipul translocațiilor există și în garniturile cromozomiale ale unor bolnavi cu sindorm Down care prezintă aparent un cariotip normal (46 cromozomi).

La acestea însă mai putem adăuga că majoritatea nou-născuților morți cu malformații multiple prezintă un număr mare de anomalii cromozomiale. S-a observat că numai aberațiile ultimilor perechi cromozomiale sînt compatibile cu viața, lucru care a fost explicat ca fiind datorat cantității mai mici de informație genetică cuprinsă în acești cromozomi și deci antrenării unor malformații mai puțin grave.

Deși tînără, citogenetica umană s-a dezvoltat extrem de rapid, tocmai datorită imperativelor descoperirii cauzelor unei serii întregi de boli ereditare, dintre care multe corelate cu afecțiuni psihice grave. Cercetătorii din țara noastră au adus contribuții importante în acest domeniu. De pildă, un colectiv de cercetători compus din A. Caratzali, Sidonia Nachtigal și Liliana Cîrnu au pus în evidență (1964) un număr mare de anomalii cromozomiale (mozaicism) la mama unui copil mongolian, care trăda o accentuată instabilitate genetică a patrimoniului ereditar, ceea ce s-a repercutat asupra copilului. La o fată de 15 ani, care prezenta o malformație congenitală a coloanei vertebrale, s-a constatat (F. Gottlieb, Sidonia Nachtigal, A. Caratzali, 1964) existența, atît a celulelor normale diploide cît și a altora hiperploide, cercetătorii considerînd că acestea se datoresc unor anomalii în dinamica cromozomială în cursul segmentării zigotului.

Un colectiv format din St. Milcu, V. Stănescu, V. Ionescu, I. Florea, I. Poenaru și C. Maximilian (Institutul de Endocrinologie al Academiei Republicii Socialiste România) au evidențiat (1964) un caz de asociere a disgeneziei gonadale feminine (sindromul Turner cu cariotipul X O) cu schizofrenie și altul în care la o bolnavă în vîrstă de 16 ani cu hidrocefalie internă și deficit psihic puternic s-au găsit celule cu număr variat de cromozomi (XO/XX). Tot la Institutul de endocrinologie (1964) s-a mai prezentat un caz de pseudohermafroditism

Scanned with OKEN Scanner

masculin la o bolnavă căreia îi lipsea cromatina sexuală și prezenta un cariotip de tip mozaic X O/X Y/X Y Y. Interesante studii de genetică medicală se fac în țara noastră la Institutul de Endocrinologie, Institutul de Inframicrobiologie, Institutul „Dr. Cantacuzino", Institutul medico-legal, Institutul de Oncologie, etc.

## MALADII METABOLICE EREDITARE

Într-o lucrare publicată în 1908, intitulată *Inborn errors of metabolism,* medicul englez *A. E. Garrod* a expus cercetările și concepțiile sale asupra unor maladii ereditare, cum sînt *alcaptonuria* și *albinismul,* maladii de natură metabolică. Prin aceste cercetări s-au pus de fapt bazele *geneticii biochimice,* ramură a geneticii care avea să cunoască ulterior o extraordinară dezvoltare.

După cum se știe, *alcaptonuria* este o maladie ereditară datorată unei gene recesive, care în stare homozigotă provoacă blocarea degradării metabolice a fenilalaninei și respectiv tirosinei, astfel că urina bolnavilor se colorează în negru. Aminoacidul fenilalanina, ingerat o dată cu alimentele, este transformat în tirosină sub acțiunea unei enzime. Tirosina la rîndul ei este transformată cu ajutorul unei alte enzime în acid p-hidroxifenil-piruvic, care este degradat mai departe în acid homogentistic (alcapton) sub acțiunea unei alte enzime. La oamenii normali acidul homogentisic este transformat sub acțiunea enzimei homogentisat oxidaza în acid acetoacetic și apoi în bioxid de carbon și apă.[1] În acest fel chiar dacă în alimentație există un exces din aminoacizii fenilalanină și tirosină aceștia sînt degradați și eliminați din organism.

La bolnavii de alcaptonurie, acidul homogentistic, denumit și *alcapton,* nu este degradat mai departe datorită absenței enzimei homogentisat oxidaza. Ca urmare, el se acumulează și este eliminat direct în urină. Deoarece acidul homogentisic este un agent puternic reducător, el se oxidează ușor și formează în urina expusă la aer un pigment negru.

În felul acesta A. E. Garrod a dovedit că alcaptonuria este o maladie metabolică ereditară și nu se datorează unui agent infecțios. Pe această bază s-a propus și tratamentul bazat pe o alimentație din care se elimină excesul de fenilalanină și tirosină.

Continuînd cercetările, A. E. Garrod a dovedit că și *albinismul,* datorat prezenței unei gene recesive în stare homozigotă (*c c*) este provocat tot de o blocare a metabolismului fenilalaninei și respectiv tirosinei. În mod normal, sub acțiunea unor enzime, excesul de fenilalanină este catalizat în tirosină, aceasta trece în 3,4 - dihidroxifenilalanină și apoi în me-

[1] După cercetările noi pentru catabolismul fenilalaninei sînt necesare 6 enzime diferite.

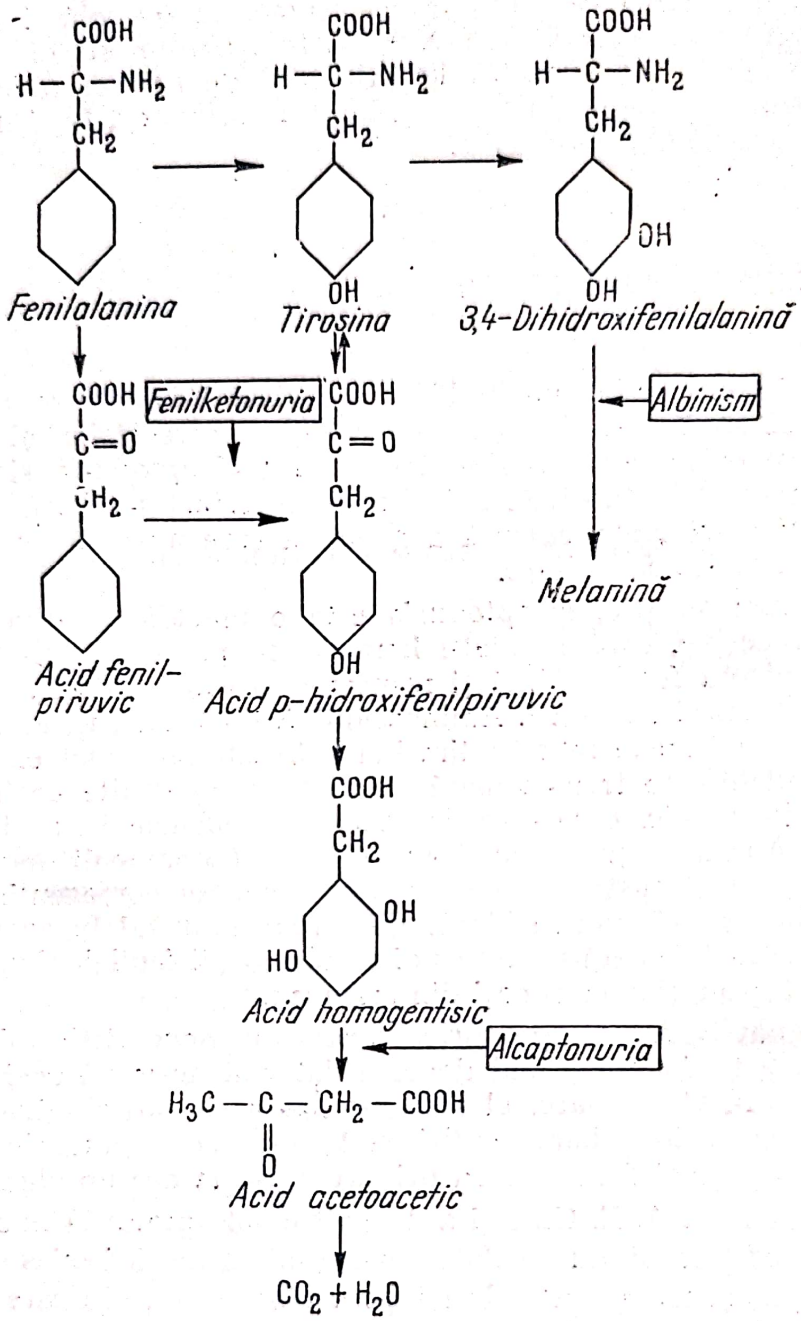



Fig. 226. Catabolismul fenilalaninei prin a cărui blocare în diferite locuri, se produc o seamă de maladii metabolice ereditare.

lanină, care este tocmai pigmentul care dă culoare pielii, părului și ochilor la om și la o seamă de animale. La indivizii albinotici este blocată ultima etapă a catabolismului fenilalaninei datorită absenței enzimei respective, astfel că nu se formează melanină și organismul este lipsit complet de pigmentație (părul și pielea au culoarea albă, iar ochii sînt roșii

datorită absenței pigmentului în iris, încît se văd eritrocitele din vasele de sînge). Din cauza lipsei de pigmentație, indivizii albinotici sînt foarte sensibili la lumină puternică și sînt nevoiți să poarte ochelari cu lentile de culoare închisă.

În sfîrșit mai există o maladie ereditară a metabolismului fenilalaninei și tirosinei, cunoscută sub denumirea de *fenilketonurie* și descoperită în 1934 de medicul norvegian F ö l l i n g. Această maladie este, de asemenea, determinată de prezența unei gene recesive în stare homozigotă și ea constă în esență din acumularea în organism a acidului fenilpiruvic, care are un efect toxic asupra sistemului nervos, încît indivizii respectivi prezintă tulburări grave psihice (idioți fenilpiruvici).

Fenilketonuria este provocată de faptul că fenilalanina este transformată sub acțiunea unei enzime în acid fenilpiruvic, dar acesta nu poate trece în acid p-hidroxifenilpiruvic din cauza absenței enzimei respective. Ca urmare, în organism se acumulează acid fenilpiruvic, din care o parte este eliminat prin urină, însă o altă parte rămîne în organism unde are o acțiune toxică asupra sistemului nervos. Pentru tratamentul acestei maladii metabolice se recomandă la copiii bolnavi o dietă cu alimente din care s-a eliminat o bună parte de fenilalanină.

În ultima vreme au fost descoperite numeroase *maladii metabolice ereditare* care afectează procese variate din organismul uman, cum sînt: sinteza hormonilor, absorbția intestinală, sinteza unor grupări moleculare etc.

*Glicogenoza* este o maladie ereditară recesivă, care constă într-o acumulare exagerată de glicogen în ficat și rinichi, fapt care provoacă tulburări grave, cum sînt: mărirea volumului ficatului, scăderea cantității de zahăr în sînge, modificări funcționale ale organismului etc. Această maladie se datorește absenței din celulele hepatice a enzimei glucoză 6 — fosfatază, fapt care blochează catabolismul glicogenului.

*Hemofilia* este, de asemenea, o maladie metabolică ereditară recesivă, care constă în incapacitatea organismului de a sintetiza globulina antihemofilică, fapt care împiedică coagularea normală a sîngelui. Ca urmare, hemoragii externe sau interne de mică importanță pot avea consecințe grave.

*Hemoglobinopatiile* sînt maladii metabolice ereditare, ale căror cauze au fost descoperite recent. Cercetările lui L. P a u l i n g și H. A. I t a n o (1958) au demonstrat că în cazul hemoglobinopatiilor, organismele respective prezintă anomalii în structura moleculei de hemoglobină. Ulterior cercetările lui V. I n g r a m (1958—1961) au arătat că înlocuirea unui singur aminoacid din lanțul polipeptidic al hemoglobinei normale cu un alt aminoacid, determină modificări funcționale importante ale hemoglobinei și apariția hemoglobinopatiilor.

După cum se știe, hemoglobina din sîngele uman are o greutate moleculară de 66 000 $\pm$ 2 000 și este formată dintr-o succesiune de 600 aminoacizi. În prezent sînt cunoscute o seamă de hemoglobinopatii provocate de existența unor tipuri anormale de hemoglobină.

Scanned with OKEN Scanner

Cele mai importante sindromuri, legate de prezența unor modificări ale hemoglobinei, sînt prezentate în tabelul următor.

| Tipul hemoglobinei și sindroamele respective | Tipul genetic | Genotipul | |
|---|---|---|---|
| | | locus Hb | locus Th |
| Normal | homozigot | $Hb^A\ Hb^A$ | $Th^N\ Th^N$ |
| Drepanocitoză (sickle cell anemia) | „ | $Hb^S\ Hb^S$ | — |
| Boala hemoglobinei C | „ | $Hb^C\ Hb^C$ | — |
| Thalassemia major | „ | $Hb^{th}\ Hb^{th}$ | — |
| Thalassemia major | „ | — | $Th^T\ Th^T$ |
| Drepanocitoză parțială | heterozigot | $Hb^A\ Hb^S$ | — |
| Boala hemoglobinei C parțială | „ | $Hb^A\ Hb^C$ | — |
| Drepanocitoză și hemoglobină C parțiale | „ | $Hb^S\ Hb^C$ | — |
| Thalassemia minor | „ | $Hb^A\ Hb^{th}$ | — |
| Thalassemia minor | „ | — | $Th^N\ Th^T$ |
| Drepanocitoză și thalassemie parțiale | „ | $Hb^S\ Hb^{th}$ | — |
| Thalassemie și hemoglobină C parțiale | „ | $Hb^C\ Hb^{th}$ | — |
| Drepanocitoză și thalassemie parțiale | heterozigoți dubli | $Hb^A\ Hb^S$ | $Th^N\ Th^T$ |
| Thalassemie și hemoglobină C parțiale | „ | $Hb^A\ Hb^C$ | $Th^N\ Th^T$ |

Tipurile anormale de hemoglobină sînt considerate ca provenind prin mutații naturale și ele se deosebesc mai mult sau mai puțin de hemoglobina *A* normală. Astfel prezența hemoglobinei *S* provoacă maladia drepanocitoză (anemia falciformă), caracterizată prin aceea că globulele roșii au o formă de seceră (sickle-cell anemia), boală ce se întîlnește la unele populații africane. În stare homozigotă drepanocitoza determină de obicei moartea indivizilor înainte de maturitate. La unii indivizi boala se manifestă sub formă heterozigotă, astfel că pe lîngă globulele roșii normale apar globule roșii în formă de seceră numai într-un mic procent. În mod similar există și alte tipuri de hemoglobină anormală în cazul celorlalte sindroame. De pildă, talasemia este, de asemenea, o anemie care apare la populațiile din jurul Mării Mediterane, însă care este mai periculoasă în forma homozigotă decît în cea heterozigotă.

Datorită faptului că diferitele tipuri de hemoglobină au sarcini electrice diferite ca mărime, ele pot fi separate prin metoda electroforezei,

Scanned with OKEN Scanner

plasînd proteinele respective într-un cîmp electric. Pe această bază s-a reușit de altfel să se identifice tipurile de hemoglobină prezentate în tabelul anterior.

Cercetările lui V. Ingram și colaboratorii (1958, 1959, 1960, 1961) au arătat că deosebirea între hemoglobina normală *A* și tipurile anormale de hemoglobină *S* și *C* nu constă decît în modificarea unui singur aminoacid din poziția 7 a lanțului polipeptidic β :

Hemoglobina *A* ⟶ Histidină — Valină — Leucină — Leucină — Treonină — Prolină — Acid glutamic — Glutamină — Lisină

Hemoglobina *S* ⟶ Histidină — Valină — Leucină — Leucină — Treonină — Prolină — Valină — Glutamină — Lisină

Hemoglobina *C* ⟶ Histidină — Valină — Leucină — Leucină — Treonină — Prolină — Lisină — Glutamină — Lisină

Efectul înlocuirii acidului glutamic din hemoglobina *A* cu valină și respectiv lisină la hemoglobinele *S* și *C* constă într-o mărire a sarcinii electrice a proteinelor anormale, fenomen în deplină concordanță cu datele obținute prin electroforeză. Cercetările lui V. Ingram au arătat astfel că înlocuirea unui singur aminoacid, dintr-un singur loc al lanțului polipeptidic, determină apariția unor hemoglobine anormale și respectiv a unor maladii grave ale sîngelui. Pe baza acestor cercetări s-a emis ipoteza că mutația s-a produs la nivelul A D N, prin înlocuirea unei baze azotate din tripleta corespunzătoare acidului glutamic. Această modificare a codului

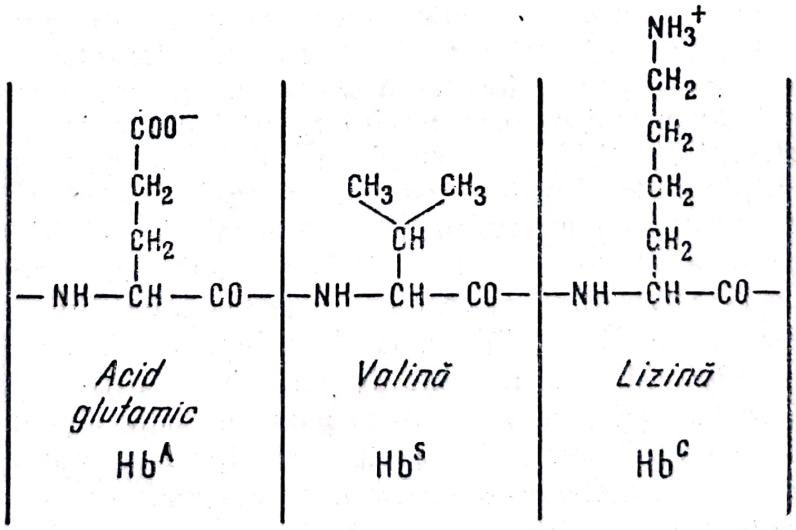



Fig. 227. Structura chimică a celor 3 aminoacizi prin care diferă hemoglobina normală ($Hb^A$) de cea a indivizilor ce prezintă drepanocitoză ($Hb^S$) sau un alt tip de anemie ($Hb^C$).

genetic ar sta la baza schimbărilor hemoglobinei normale și ar determina apariția bolilor respective.

Cercetările moderne privind maladiile metabolice ereditare, a căror listă este bineînțeles mult mai lungă, au reușit astfel să demonstreze nu numai faptul că ele nu au caracter infecțios și nu sînt provocate de agenți patogeni, dar că ele au apărut prin *mutații naturale la nivelul moleculelor de acizi nucleici,* transmițîndu-se ereditar de obicei în stare recesivă. Desigur că descifrarea mecanismului molecular de apariție al acestor maladii are nu numai importanță teoretică, ci și practică, legată de profilaxia și tratamentul lor. S-au pus astfel bazele unei ramuri noi a geneticii umane, care își propune să studieze *maladiile moleculare ereditare* în special cu ajutorul metodelor moderne de biochimie, biofizică și biologie moleculară.

## RADIAȚIILE MUTAGENE ȘI EREDITATEA UMANĂ

Efectul dăunător al iradierii se manifestă asupra organismului uman în aceiași măsură ca și asupra plantelor, animalelor, microorganismelor. Fondului natural de radiații compus din radiația cosmică și cea terestră i se adaugă în cazul omului iradierea datorită utilizării pe scară tot mai largă a radiațiilor în epoca modernă. Sporirea surselor de producere a radiațiilor cu energie înaltă în era atomică are un cuvînt greu de spus în privința creșterii expunerii organismului uman la radiații. Dacă în medie doza per gonade, absorbită prin fondul natural de iradiere este de 25—60 mr pe an, numeroase sînt căile prin care corpul uman poate primi o doză mai mare decît media. Dintre acestea trebuie menționate în primul rînd căderile radioactive ca urmare a experiențelor nucleare, care mai continuă încă și după încetarea acestora, sporind cu 5—10 mr/an doza absorbită de organism prin fondul natural de radiații. Izotopul radioactiv al stronțiului $Sr^{90}$, de exemplu, rezultat în urma exploziilor nucleare este răspîndit în cantitate mare în atmosferă, căzînd în decurs de cîțiva ani la suprafața pămîntului. El este similar calciului și tinde să-l înlocuiască pe acesta în țesuturile vegetale sau animale. Plantele încorporează cu aviditate stronțiul radioactiv. Aceste plante sînt consumate de exemplu de vacile de lapte, $Sr^{90}$ trecînd în laptele consumat ulterior în alimentația omului. El este deosebit de periculos pentru copii la care se concentrează în țesutul osos. $Sr^{90}$ emite particule beta și are o durată de înjumătățire de aproximativ 28 de ani, principala afecțiune cauzată de încorporarea lui în organismul omenesc fiind leucemia.

Tot rezultat din experiențele nucleare și extrem de dăunător pentru om este izotopul radioactiv al cesiului $Cs^{137}$. El a fost detectat în cantitate mare la suprafața pielii, putînd fi, de asemenea, ingerat prin intermediul alimentelor contaminate. $Cs^{137}$ emite radiații gamma foarte

Scanned with OKEN Scanner

penetrante și este considerat extrem de periculos prin modificările genetice pe care le poate provoca.

Un alt factor care duce la sporirea mutațiilor provocate de radiații la om este carbonul radioactiv $C^{14}$, produs de neutronii emiși în urma exploziilor nucleare. El ajunge pe pămînt unde este încorporat în plante sau dizolvat în oceane. Cum carbonul este un constituent de bază al țesuturilor vii și în special un element important în materialul genetic al A D N-ului, dacă un atom de $C^{14}$ ia parte la constituirea moleculei de A D N aceasta va avea repercusiuni profunde, deoarece $C^{14}$ prin dezintegrare este transmutat într-un atom de azot.

Iradierea medicală este, de asemenea, o sursă extrem de importantă de sporire a iradierii populației, ea variind de la o țară la alta. În 1956 la New-York fiecare locuitor a primit o doză medie/gonade de 100 mr/an, iar în Elveția 110 mr. În S.U.A. iradierea artificială pe o generație a devenit egală sau chiar mai mare decît iradierea naturală. În țara noastră în decursul ultimului deceniu numărul examenelor radiologice s-a dublat.

Cînd dozele administrate corpului omenesc sînt de ordinul a 500 mr/an de persoană, ele sînt considerate permisibile, organismul nesuferind de pe urma lor. Dozele mai mari însă prescrise de medici ca măsuri terapeutice reclamă o supraveghere atentă a bolnavilor și protecția față de eventualele iradieri patologice.

La iradierea medicală se adaugă în ultimele decenii producerea și utilizarea pe scară tot mai largă a radiațiilor în industrie, agricultură și în general în cercetarea științifică.

**DOZELE MEDII PRIMITE DE GONADE ÎN URMA UTILIZĂRII RADIAȚIILOR ÎN INDUSTRIE ȘI MEDICINĂ**

| Surse | Doza, în mr/an |
|---|---|
| Radiologie medicală | |
| Diagnostic | 14,1 |
| Terapeutică malignă | 4,5 |
| Terapeutică nemalignă | 0,5 |
| Diferite alte iradieri | 0,2 |
| Expuneri mici ale publicului general la controale periodice | 1,0 |
| Expunerea profesională | |
| Personal medical | 0,25 |
| Personal care lucrează în instituțiile de energie atomică | 0,15 |
| Total : | 20,7 |

Scanned with OKEN Scanner

Consecinţele iradierilor asupra omului se manifestă în două direcţii principale : leziunile imediate asupra persoanei expuse şi efectul lor tardiv.

Efectul imediat al iradierii asupra persoanei expuse se manifestă sub forma unei serii de fenomene morbide întrunite sub denumirea de *sindrom de iradiere*, care a fost pentru prima oară descris, studiat şi tratat la victimele exploziilor atomice de la Hiroşima şi Nagasaki. Debutul, evoluţia şi sfîrşitul acestei boli depind în primul rînd de doză, natura, modul de acţiune al radiaţiei şi sensibilitatea organismului. Iradierea are asupra omului şi efecte întîrziate, concretizate prin afecţiuni carcinogene şi modificări genetice. Acestea din urmă sînt detectabile numai la generaţiile următoare.

Dificultăţile rezultate din imposibilitatea experimentării efectului radiaţiilor asupra omului fac ca rezultatele unor cercetări să fie interpretate diferit, iar părerile specialiştilor privitoare la urmările iradierilor asupra eredităţii omului să fie împărţite. O serie de observaţii făcute asupra copiilor radiologilor şi ai bolnavilor iradiaţi terapeutic au pus în lumină date interesante. În Japonia, T. Kitabatake (1960) cercetînd copiii a 246 persoane iradiate profesional a găsit 5 malformaţi, în timp ce în grupul de control analizat, din 287 copii născuţi din părinţi neiradiaţi, unul singur era malformat. În Bulgaria, dintre 617 descendenţi ai unor persoane iradiate profesional mai mult de un an s-au găsit 17 malformaţi (2,7%), în timp ce la martor numărul malformaţiilor era de numai 3 din 485 persoane analizate (0,6%). S. H. Macht şi P. S. Lawrence (1955) efectuînd observaţii asupra copiilor radiologilor americani găsesc că incidenţa malformaţiilor este de 6,1% faţă de 4,82% la copii unor părinţi neiradiaţi. De asemenea, s-a constatat că în urma iradierilor cu doze mici şi repetate apar frecvente mutaţii letale, datorită cărora fecundarea devine imposibilă sau dacă s-a produs dezvoltarea embrionului nu poate fi continuată, eşuînd în avorturi timpurii.

Existenţa mutaţiilor letale consecutive iradierii este probată şi de descoperirea schimbării raportului între sexe la descendenţii indivizilor iradiaţi. R. Turpin (1956), cercetînd 284 de femei care suferiseră iradieri cu doze de aproximativ 1 300 r semnalează scăderea numărului de băieţi (75 fete, 64 băieţi). Efecte similare au fost constatate la descendenţii unor femei olandeze care au primit 300—600 r şi printre cei ai unor femei americane care au primit între 5 şi 200 r. Studiindu-se descendenţii unor bărbaţi care au suportat iradieri cu doze mai mari de 1 000 r, tot R. Turpin constată scăderea numărului descendenţilor de sex feminin (140 băieţi şi 104 fete), iar la descendenţii unor taţi iradiaţi cu doze mai mici, dimpotrivă, micşorarea incidenţei băieţilor. Schimbarea raportului normal între sexe a dus la concluzia că în urma iradierii apar modificări în cromozomii sexului, incompatibili cu fecundarea sau cu dezvoltarea oului. Modificarea raportului între sexe a apărut şi printre descendenţii persoanelor iradiate în cursul exploziilor bombelor atomice de la Hiroşima şi Nagasaki.

Scanned with OKEN Scanner

Perioada de maximă sensibilitate a organismului uman față de iradiere este cuprinsă între a doua și a șasea săptămînă de viață intrauterină. Iradierea embrionului în perioada de organogeneză duce la apariția unor anomalii cranio-cerebrale (anencefalie, microcefalie, inencefalie, hidrocefalie), oculare (microftalmie, cataractă, nistagmus), scheletice (spina bifida, palatoschizis), genito-urinare etc.

Pînă în prezent se consideră că orice cantitate de radiații, cît de mică, determină mutații ereditare ireversibile și că sînt cumulate complet chiar și dozele cele mai reduse. Cercetările mai recente au indicat însă și posibilitatea existenței unei valori-prag, dedesubtul căreia nu sînt de temut alterări ale patrimoniului ereditar. Nivelul acestei valori-prag este apreciat diferit. J. Lecfebvre (1961) consideră că pentru a fi teratogenă, iradierea trebuie să fie mai mare de 100 r. Mulți geneticieni consideră însă această valoare mult prea mare, tendința majorității fiind să evalueze că doza de 25 r este suficientă pentru a produce malformații.

O problemă care constituie un subiect de discuție între geneticienii contemporani este legătura pe care o fac mulți dintre aceștia între procesul mutațional și boala actinică sau așa-numitul sindrom de iradiere. Aceștia consideră că boala actinică nu este altceva decît un efect fiziologic integral al variațiilor genetice multilaterale produse în celulele țesuturilor somatice. De exemplu, B. L. Astaurov (1962) susține că la baza bolii actinice se află modificări ale nucleoproteinelor și formarea unor proteine străine tipului genetic al celulelor, diferența dintre efectul biologic al mutațiilor și cel al bolii actinice depinzînd de însușirile substratului în care au fost provocate variațiile respective. Cercetări ulterioare vor urma să confirme sau să infirme această teorie.

Extinderea utilizării radiațiilor în epoca noastră ridică tot mai acut problema protejării omului de acțiunea nocivă a radiațiilor. Aceasta implică în primul rînd stabilirea dozei maxime de energie radiantă pe care o poate suporta organismul uman fără cosecințe, peste iradierea naturală. În momentul de față se consideră că doza maximă este de 0,5 r/an de individ, adică mai puțin de 15 r în 30 de ani cît cuprinde perioada de maximă fertilitate. Această cifră rezultă din însumarea celor 4 r care constituie fondul natural de radiații, cu 4—5 r datorate expunerilor medicale și 5—6 r în urma altor radiații artificiale.

Protecția profesională și generală a populației împotriva radiațiilor constituie obiectul unor reglementări juridice, bazate pe recomandările forurilor internaționale. Normele elaborate de acestea pentru doza maximă admisibilă de energie radiantă nu rămîn însă permanent valabile, ci trebuie să se adapteze progreselor continue ale radiogeneticii și radiobiologiei generale.

★

Genetica umană, ramură tînără a geneticii și medicinii, și-a îndreptat atenția în bună măsură asupra studiului malformațiilor congenitale a căror frecvență, pe plan mondial, a crescut în ultimii ani. Aprofundarea analizei factorilor mutageni și a măsurilor care pot fi luate împotriva

Scanned with OKEN Scanner

acțiunii lor nocive asupra patrimoniului genetic uman creează premisele scăderii frecvenței malformațiilor congenitale. Printre aceste măsuri se numără limitarea explorărilor și tratamentelor radiologice, în special a celor care determină iradierea organelor sexuale, administrarea cu prudență a hormonilor și a unor medicamente cu efect teratogen asupra embrionului uman, cercetarea atentă a tuturor nou-născuților în vederea depistării malformațiilor și tratării lor imediate etc. Totodată se continuă studiul mecanismului de acțiune a substanțelor teratogene pentru a se realiza anihilarea cît mai eficientă a efectului lor nedorit.

Deși extrem de interesante, studiile anomaliilor cromozomice la om nu rezolvă în întregime problemele pe care le ridică genetica umană. Ele sînt îndeosebi utile din punct de vedere clinic, dar sînt încă departe de a putea clarifica semnele de întrebare extrem de dificile pe care le ridică problemele privind ereditatea umană. De aceea, în ultima vreme se urmărește tot mai mult corelarea cercetărilor de citogenetică umană cu cele biochimice, căutîndu-se cauzele determinării unor caracteristici biochimice normale sau patologice ale organismului omenesc. Pe această cale în prezent se fac cercetări interesante asupra așa-numitelor *boli moleculare* și se adîncesc cercetările de imunogenetică. În mod deosebit trebuie subliniate cercetările asupra hemoglobinei normale și cea patologică, cercetări care au dus la descoperirea mecanismului molecular de apariție a hemoglobinei anormale, specifică unor maladii grave ale sîngelui. S-au deschis astfel perspective pentru *studiul unor maladii la nivel molecular*, fapt care desigur va permite luarea de măsuri eficiente pentru păstrarea sănătății omului. În acest fel *genetica umană*, pe lîngă importanță teoretică, capătă tot mai mult caracterul de știință aplicată, *genetica medicală* devenind astăzi o realitate.

## RASELE UMANE DIN PUNCT DE VEDERE GENETIC

Rasele pot fi definite ca populații izolate cu o frecvență caracteristică a genelor care le deosebește de alte populații aparținînd aceleiași specii. În ceea ce privește rasele umane, o realitate biologică neîndoielnică, s-au făcut multe speculații și s-au elaborat o seamă de teorii false referitor la „superioritatea" și „inferioritatea" lor, încît este necesară și abordarea genetică a problemei.

În primul rînd trebuie remarcat că în specia umană *(Homo sapiens)* căreia îi aparțin toate rasele omenești *nu există rase pure* deoarece o astfel de rasă ar trebui să fie formată din indivizi homozigoți pentru toate genele alele. După cum se știe însă, specia umană este extrem de heterozigotă, deoarece consangvinizarea — cu binecunoscutele ei efecte negative — a fost din totdeauna împiedicată prin uzanță, religie, legislație etc. *Populațiile umane prezintă o mare diversitate genetică*, astfel că cel

Scanned with OKEN Scanner

mai adesea deosebirile genetice dintre indivizii unei rase depășesc deosebirile genetice dintre rase. Mai mult, pe baza cercetărilor moderne de genetică, se poate afirma că fiecare individ constituie un exemplar unic al speciei, astfel că *unitatea speciei umane se realizează prin diversitatea ei.* De pildă este bine cunoscut faptul că între indivizii aceleiași rase sau chiar aceleiași familii nu se poate realiza transplantarea unui țesut de la un individ la altul, ci numai în cadrul aceluiași organism (autotransplantul) sau între gemeni monozigoți. Pe de altă parte trebuie subliniat că *încrucișarea raselor nu numai că nu prezintă inconveniente biologice, dar ea contribuie tocmai la menținerea unității speciei umane în diversitatea ei și este utilă pentru umanitate în general.*

Deosebirile între rasele umane afectează numai puține caractere biologice, frecvența unui număr redus de gene fiind mai mare sau mai mică în cadrul unei rase sau al alteia. În ceea ce privește însă imensa majoritate a genelor, ele alcătuiesc patrimoniul ereditar — genotipul — nu al unei rase sau al alteia, ci al speciei umane ca atare. Chiar în ceea ce privește caracterele biologice pe baza cărora se face de obicei clasificarea raselor umane, trebuie arătat că diferențele sînt mai mult de ordin cantitativ decît calitativ. De pildă, culoarea pielii umane este determinată de cantitatea de melanină, care însă chiar în cadrul aceleiași rase variază în limite foarte mari.

Dacă ne referim la majoritatea caracterelor biologice ale speciei umane, trebuie subliniat că deosebirile în cadrul rasei sînt mult mai mari față de cele dintre rase. Cercetările moderne privind, de pildă, frecvența genelor care determină grupele sanghine (O, A, B, A B), precum și diferite caracteristici ale sîngelui (factori sanguini M, N, M N, Rh etc.) au arătat existența unei mari diversități în cadrul fiecărei rase, încît o clasificare a raselor umane din acest punct de vedere diferă aproape total de clasificarea uzuală.

În sfîrșit, toate cercetările moderne de genetică umană n-au putut pune în evidență existența unor diferențe rasiale în ceea ce privește frecvența genelor care determină capacitatea intelectuală a omului. Din contră, aceste cercetări au arătat că progresele culturale realizate în ultimele milenii de populațiile umane au o determinare socială și nicidecum genetică. De asemenea, trebuie ținut seama că marile rase umane înglobează popoare diferite din punct de vedere economic, lingvistic, cultural, geografic, religios etc. și că nu există nici un temei științific pentru a atribui anumite particularități culturale și intelectuale ale unui popor, unor caracteristici ale genotipului. Capacitatea genetică de dezvoltare intelectuală este un atribut al întregii specii umane și are valoare universală.

*Pe această bază reiese evident că rasismul nu are nici un fel de bază științifică și că împărțirea umanității în rase superioare și inferioare în funcție de culoarea pielii, de forma craniului (dolicocefali, mesocefali și brahicefali etc.) este complet eronată.* În prezent genetica populațiilor

Scanned with OKEN Scanner

a acumulat un bogat material faptic ce demonstrează că nu există argumente privind caracteristicile fizice sau intelectuale pentru a clasifica rasele în „superioare" și „inferioare". Declarația asupra raselor (1966), elaborată de către un mare număr de savanți și experți de renume mondial, sub egida UNESCO, arată că *împărțirea raselor în superioare și inferioare are un caracter antiștiințific, toate rasele umane avînd aceleași potențialități biologice*. Acest document de mare valoare dă o lovitură zdrobitoare rasismului și adepților săi, demonstrînd științific că specia umană este unitară și că în totalitate ea are capacitatea genetică de dezvoltare intelectuală.

Scanned with OKEN Scanner

## BIBLIOGRAFIE


Allfrey, V. G., Mirsky, A. E. *Nucleic acids direct the making of proteins, which catalyze the chemistry of life.* „Scientific American", 1961, 205, 74.

Allfrey, V. G., Mirsky, A. E. *Mechanisms of synthesis and control of protein and ribonucleic acid synthesis in the cell nucleus.* Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1961, 247.

Altenburg, E. *The artificial production of mutations by ultraviolet light.* „Amer. Natur.", 1934, 68, 491.

Anderson, G., Olsson, G. *Svalöf's Primex white mustard, a marked variety selected in ray treated material.* „Acta Agric. Scand.", 1954, 4, 3.

Anfinsen, C. B. *The molecular basis of evolution.* New-York, John Wiley and Sons. Inc., 1963.

Astaurov, B. L. *Ioniziruiuşcie radioizlucenia i nasledstvennosti.* „Priroda", 1962, 4.

Auerbach, C., Robson, J. M. *Chemical production of mutations.* „Nature", 1946, 57, 302.

Auerbach, C. *Genetics in the atomic age.* New-York, „Oxford University Press", 1956.

Auerbach, C. *Mutation. An Introduction to research on Mutagenesis.* Edinburgh, Oliver and Boyd, 1962.

Avery, A., Mac Leod, C. M., Mc Carty M. *Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types.* „Jour. Exp. Med., 1944, 79.

Balbiani, E. G. *Sur la structure des noyaux des cellules salivares chez les larves de Chironomus.* „Zool. Anz.", 1881, 4.

Baranov, P. A. *Poliploidia în slujba agriculturii sovietice.* „An. rom.-sov.", Biol., 1955, 1.

Bateson, W., Saunders, E. R. *Report to the evolution committee of the Royal Society,* 1902, I.

Bateson, W. *Mendels principles of heredity.* „Cambridge Univ. Press.", 1909


Scanned with OKEN Scanner

Brachet, J. *Ribonucleic acids and the synthesis of cellular proteins.* „Nature", 1960, 186, 194.

Brachet, J. *The living cell.* „Scientific Amer.", 1961, 205, 50

Bremer, R. D. E., Bremer, G. *Methods used for producing polyploid agricultural plants.* „Euphitica", 1952, 1.

Breslavet, A. P. *Poliploidia v prirode i opite.* Izd. Akad. Nauk. S.S.S.R., 1963.

Brewbaker, J. L. *Colchicine induction of tetraploids in Trifolium species.* „Agron. Jour.", 1952, 44.

Bridges, C. B. *Genetical and cytological proof of nondisjunction of the fourth chromosome of Drosophila melanogaster.* „Proc. Nat. Acad. Sci.", 1921, 7.

Burbank, L. *Privivka tomata i cartofelia.* „Iarovizația", 1938, 3.

Butterfass, T. *Ploidie und Chloroplastenzahlen.* „Sond. Ber. Deut. Bot. Ges.", 1960, 10.

Campbell, A. M. *Episomes.* „Advances in Genetics", 1962, 11, 101.

Caratzali, A., Nachtigal, S., Cîrnu, L. *Cariotipul parental în sindromul Down.* În : „Cercetări de genetică", București, Ed. did. și ped., 1965, 663.

Caratzali, A., Nachtigal S., Cîrnu, L. Mogoș, N. *Cariotipul subiecților iradiați profesional.* În „Cercetări de genetică", București, Ed. did. și ped., 1965, 447.

Caspersson, T. *Über den chemischen Aufbau der Strukturen des Zellkernes.* „Skand. Arch. Physiol.", 1936, Suppl. 8.

Caspersson, T. *Cell growth and cell function.* New-York, Norton ed., 1950.

Castle, W. E., Moore, L. *Mutations of mink under domestication.* „Jour. Hered", 1946, XXXVII.

Ceapoiu, N., Potlog, A. S. *Ameliorarea plantelor agricole.* București, Ed. Agro-silvică, 1960.

Ceapoiu, N., Manoliu, M, Drăgănescu, C. *Heterozisul și mecanismul său genetic.* În : „Cercetări de genetică", Buc., Ed. did. și ped., 1965.

Chapeville, F., Lipmann, F., Ehrenstein, G., von Weisblum, B., Ray, W. J., Benzer, S. *On the role of soluble RNA in coding for amino-acids.* „Proc. Natl. Acad. Sci.", 1962, 48, 1086.

Chargaff, E. *Structure and function of nucleic acids as cells constituents.* „Fed. Proc.", 1951, 10, 654.

Chargaff E., Davidson, J. N. *The Nucleic Acids.* I. New-York, „Acad. Press.", 1955.

Clausen, J., Keck, D., Hiesey, W. *Regional differentiation in plant species.* „Amerc. Natur.", 1941, 75, 231.

Clausen, J. *Stages in the evolution of plant species.* „Cornell Univ. Press. Pop.", 1951, 8, 206.

Constantinescu, G. K. *Ereditatea experimentală.* București, 1922.

Costăchel, O., Niculescu-Duvăz, I., Nachtigal, M., Pop, I. *Probleme ale ipotezei mutației în cancer.* În : „Cercetări de genetică", Buc., Ed. did. și ped., 1965.

Scanned with OKEN Scanner

Dobzhansky, Th. *Evolution, Genetics and Man.* New-York, J. Wiley and Sons., Inc., 1955.

Dodson, E. *Genetics, the modern science of heredity.* New-York, J. Wiley and Sons. Inc., 1959.

Dommergues, P. *Action des rayons sur les bourgeons de la variété de poirier Max Red Bartlett.* Versailles, INRA, 1960.

Dommergues, P. *Actions de quelques agents mutagènes sur la laitue.* Versailles, INRA, 1960.

Down, E. E., Anderson, A. L. *Agronomic use of an X ray induced mutant.* „Science", 1956, 124.

Drăgănescu, C. *Heterozisul în ameliorarea animalelor.* Buc., Ed. Agro-silvică, 1965.

Dubinin, N. P. *Genetica moleculară și acțiunea radiațiilor asupra eredității.* București, Ed. științifică, 1966.

Dustin, A. P., Havas, L. J., Lits, F. *Action de la colchicine sur les divisions cellulaires chez les végétaux.* C.R. Assoc. Anotomistes, 1937.

East, E. M., Jones, D. F. *Inbreeding and outbreeding.* Philadelphia and London, Lippincott Co., 1919.

Efroimson, S. N. *Biochimia nasledstvennîh boleznei celoveka.* J. Vsesoiuz, him. ovo, 1960, VI, 3, 155.

Ehrenberg, L., Gustaffson, A., Levan, A., Wettstein, U. *Radiophosphorus seedling lethality and chromosome disturbances.* „Hereditas", 1949, 35.

Ellenhorn, I. E., Svetozarova, V. V. *Novoe v izucenii proțesa oplodotvorenia u pokrîtosemenîh rastenii.* „Botaniceski Jurnal", 1949, 34, 6.

Elliot, F. C. *Plant Breeding and Cytogenetics.* New-York, Mc Graw-Hill Book Comp., Inc., 1958.

Emerson, R. A. *The genetic relations of plant colors in maize.* Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Memoir 1921, 39.

Ephrussi, B. *Nucleo-cytoplasmatic Relations in Microorganisms.* Oxford, Clarendon Press, 1953.

Essad, S. *La poliploidie et ses aspects évolutifs en relations avec l'amélioration des plantes.* „Ann. Ameliorat. Plant.", 1957, 2.

Essad, S., Touvin, H. *Tehniques de production et de contrôle des betteraves polyploides* Ann. Ameliorat. Plant.", 1959, 4.

Fernandes, A. *Sur la phylogenie des espèces du genre Narcisus.* L. Bot. Soc. Brater., 1951, 25, 113.

Feulgen, R., Rossenbeck, A. *Mikroskopisch chemischer Nachweis einer Nukleinsäure vom Typus der Thymonukleinsäure und auf die derauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten.* Ztschr. Physiol. Chem.", 1924, 135.

Fisher, R. A. *Statistical Methods for Research Workers*", 10 th ed., Edinburgh, Oliver and Boyd, 1947.

Fincham, J. R. S. *Microbial and molecular genetics.* „Engl. Univ. Press.", 1965.

Goldschmidt, R. *Untersuchungen zur Genetik der geographischen Variation.* „Arch. Entw. Mech.", 1924, 101.

Goldschmidt, R. *Lymantria.* „Bibliographia Genetica", 1934, 11, 1.

Goldschmidt, R. *Theoretical Genetics.* „California Univ. Press.", 1955.

Goodman, H. M., Rich, A. *Mechanism of polysome action during protein-synthesis.* „Nature", 1963, 199, 318.

Gordon, G. *Variety of the common or house mouse.* „Zoologist", 1850, 8, 2763.

Gottlieb, F., Nachtigal, S., Caratzali, A. *Malformație congenitală a coloanei vertebrale și aberații cromozomiale.* În: „Cercetări de genetică", Buc., Ed. did. și ped., 1965, 651.

Griffith, E. *Significance of pneumococcal types.* „Jour. Hyg.", 1928, 7.

Gröber, K. *Mutationsversuche an Kulturpflanzen. XI. Die Erzeugung von somatischen Mutationen mittels Röontgenstrahlen beim Obst.* Berlin, „Die Kulturpflanzen", 1959.

Grouchy, J. *Le méssage héréditaire.* Paris, Gauthier-Villars, 1965.

Grunberg-Manago, M., Ortiz, P. I., Ochoa, S. *Enzimatic synthesis of nucleic acid like polynucleotides.* „Science", 1955, 122, 907.

Gustafsson, A. *Mutation experiments in barley.* „Hereditas", 1940, 27.

Gustafsson, A. *Mutation und Mutationszüchtung.* „Handb. Pflanzenzucht", 1958, 1.

Guyénot, E. *L'Hérédité.* Paris, G. Doin et C-ie, 1948.

Guyénot, E. *La variation.* Paris, G. Doin et C-ie, II ed., 1950.

Haase, G., Goldschmidt, E. *A decaploid strain of Artemia salina.* „Nature", 1956, 158, 239.

Hadorn, E. *Developmental Genetics and Lethal Factors.* New-York, John Wiley and Sons, 1961.

Haeckel, E. *Generelle Morphologie der Organismen".* Berlin, 1866.

Hagberg, A., Nybom, N. *Reaction of potatoes to X irradiation and radiophosphorus.* „Acta. agr. scand," 1954, 4.

Hagemann, R. *Plasmatische Vererbung.* Iena, VEB Gustav Fischer Verlag, 1964.

Haggqvist, G., Bane, A. *Studies in triploid Rabbits produced by colchicine.* „Hereditas", 1950, 36.

Haldane, J. B. S. *The Biochemistry of Genetics.* New-York, The Macmillan Co. 1954.

Hardy, G. *Mendelian Proportions in a Mixed Population.* „Science", 1908, 28, 49.

Hartman, P. E, Suskind, S. R. *Gene action.* New Jersey, Prentice-Hall Inc., 1965.

Hayes, H. K., Brewbacker, M. E. *Frequency of mutations for clorophyl deficient seedlings in maize.* „Journal of Heredity", 1924, XV.

Scanned with OKEN Scanner

Jenkins, M. T. *Heritable characters in maize XX. Jojap striping, a clorophyll defect.* „J. Heredity", 1924, 15, 467.

Joergensen, C. A. *The experimental formation of heteroploid plants in Solanum.* „J. Genet.", 1928, 19.

Johannsen, W. *Über Erblichkeit in Populationen und reinen Linien.* Jena, 1903.

Jones, H. H., Clarke, A. E. *A natural amphidiploid form, an species hybrid.* „Jour. Heredity", 1924, XXXIII.

Karpecenko, G. D. *Polyploid hybrides of Raphanus sativus x Brassica oleracea.* „Zeitschr. Indukt. Abst. Vererb.", 1928, 48, 1.

Kasha, M., Pullman, D. *Horizons in biochemistry.* New-York, „Acad. Press", 1962.

Kihara, H., Ono, T. *Chromosomenzahlen und systematische Gruppierung der Rumex-Arten.* „Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.", 1926, 4.

Kölreuter, D. J. G. *Vorläufige Nachricht von einigen das Geschlecht der Pflanzen betreffenden Versuchen und Beobachtungen, nebst Fortsetzung 1, 2 und 3.* „Ostwalds Klasiker der Exakten Wissenschaften", nr. 41. Leipzig, Verlag W. Engelman, 1761, 66.

Kornberg, A. *Pathways of enzymatic syntesis of nucleotides and polynucleotides.* În „The chemical basis of heredity", Mc Elroy, W. D. Glass B. Ed., The Johns Hopkins Press, 1957.

Kornberg, A. *Enzimatic synthesis of DNA.* New-York, John Wiley and Sons Inc., 1961.

Kostoff, D., Kendall, J. *Studies on polyploid plant.* „Gartenbauwiss", 1934, 9, 20.

Kostoff, D. *Polyploids are more variable than their original diploids.* „Nature", 1939, 144, 868.

Kruh, J. *Le polysome,* „Ann. Gen.", 1964, 7, 51.

Lamarck, J. B. *Philosophie Zoologique.* Paris, 1873.

Lamy, M. *Précis de Génétique Médicale.* Paris, G. Doin et C-ie, 1952.

Lark, K. G. *Cellular Control of DNA Biosynthesis.* În „Molecular Genetics", New-York, J. H. Taylor ed., Acad. Press., 1963.

Lederberg, S., Lederberg, E. M. *Replica Plating and Indirect Selection of Bacterial Mutants.* J. Bact., 1952, 63, 399.

Lelakis, P. *Induction de la Polyploide chez Vitis vinifera L. par application de la colchicine.* „Annales de L'Ecole Nationale d'Agriculture de Montpellier", 1957, XXX. 1.

L'Héritier, Ph. *Sensitivity to $CO_2$ in Drosophila.* „*Heredity*", 1948, 2.

L'Héritier, Ph. *Traité de génétique.* „Presses Universitaires de France", 1954.

Lejeune, J., Turpin, R., Gauthier M. *Le mongolisme, premier exemple d'aberration chromosomique humain.* „Ann. genet.", 1959, 1, 41.

Levan, A. *The effect of colchicine on root mitoses in Allium.* „Hereditas", 1938, 24.

Scanned with OKEN Scanner

Mesrobeanu, I., Horodniceanu, F., Zamfirescu, M., Crainic, R. *Cercetările fundamentale în genetica virusurilor animale și unele aspecte ale raporturilor cu practica.* În: „Cercetări de genetică", București, Ed. did. și ped., 1965, 53.

Michaelis, P. *Cytoplasmic Inheritance in Epilobium and its Theoretical Significance.* New-York, Adv. Genet., M. Demerec ed., Acad. Press, vol. 6, 1964.

Miciurin, V. I. *Opere alese.* București, Ed. Academiei R.P.R., 1954.

Milcu, St., Giosan, N., Raicu, P. *Orientarea cercetărilor contemporane de genetică.* În: „Cercetări de genetică", Buc., Ed. did. și ped., 1965.

Milcu, St., Maximilian, C., Ionescu, B., Strihan, P. *Anomaliile cromozomiale și disgeneziile gonadale.* În: „Cercetări de genetică", Buc., Ed. did. și ped., 1965, 593.

Milcu, Șt., Maximilian, C. (sub redacția) *Genetica umană,* București, Ed. științifică, 1966.

Millardet, A., *Zametki o lojnoi ghibridizații u vinogradnih.* „Iarovizația", 1941, 2.

Moēs, A. *Les mutations induites par les rayons X chez l'orge distique.* Gembloux, Belgique, „Bulletin de l'Institut Agronomique de l'Etat", 1959.

Monod, J., Cohen-Bazire, G., Cohn, M. *Sur la biosynthèse de la β-galactosidase (lactase) chez E. coli. La specificité de l'induction.* „Biochim. Biophys. Acta", 1951, 7, 585.

Monod, J. *Données nouvelles sur la biosynthèse des enzymes. Adaptation enzymatique.* „Exposés Annuels de Biochimie Medicale", 17e serie. Paris, Masson et C-ie, 195.

Morgan, T. H., Bridges, C. B. *Contributions to the Genetics of Drosophila melanogaster.* Carnegie Inst. Wash. Publ. 1919, 278, 1.

Morgan, T. H., Sturtevant, A. H., Müller, H. J., Bridges, C. B. *Le mécanisme de l'hérédité mendélienne.* Bruxelles, Ed. H. Lamertin, 1923.

Morgan, T. H., Bridges, C. B., Sturtevant, A. H. *The genetics of Drosophila.* Bibliogr. genetica, 1925. II.

Morgan, T. H. *The Theory of the Gene.* New Haven, „Yale Univ. Press.", 1929.

Müller, H. J. *Artificial transmutation of the gene.* „Science", 1927, 66, 84.

Müller, H. J. *The effects of X-radiations genes and chromosomes.* „Anat. Rec.", 1927, XXXVII, 174.

Müller, H. J. *Genetic nucleic acid key material in the origin of life.* În „Perspectives in biology and medicine", 1961, 5, 1.

Müntzing, A. *Cytogenetic investigation on synthetic Galeopsis tetrachit.* „Hereditas", 1932, 16.

Müntzing, A. *Cytogenetic properties and practical value of 4 n rye".* „Hereditas", 1951, 37.

Mureșan, T., Cosmin, O. *Androsterilitatea citoplasmatică și folosirea ei în ameliorarea și producerea de sămînță la plantele agricole.* În „Cercetări de genetică", București, Ed. didactică și pedagogică, 1965.

Scanned with OKEN Scanner

Wilkins, M. H. F. *Physical studies of the molecular structure of deoxyribose nucleic acid and nucleoprotein.* Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1956, XXI, 75.

Wilkins, M. H. F. *The molecular structure of DNA.* „J. Chim., Phys.", 1961, 58, 891.

Winge, Q. *The chromosomes. Their numbers and general importance.* Compt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg, 1917, 13, 131.

Winkler, H. *Untersuchungen über Propfbastarde.* Jena, 1912.

Winkler, H. *„Über die experimentelle Erzeugung von Pflanzen mit abweichenden Chromosomenzahlen.* „Z. für Bot.", 1916, 8.

Wolff, C. F. *Theoria Generationis.* Halle, 1759.

Zacharias, M. *Mutationsversuche an Kulturpflanzen VI. Röntgenstrahlungen der Sojabohne.* „Der Züchter", 1956, 26.

Zalokar, M. *Nuclear origin of ribonucleic acid.* „Nature", 1959, 183, 1330.

Zwintscher, M. *Die Auslösung von Mutationen als Methode der Obstzüchtung.* Report of the second congress of Eucarpia, Köln, 1959.

Scanned with OKEN Scanner

Redactor responsabil : APOSTOL NASTA
Tehnoredactor : BĂLĂIȚĂ TITEL

*Dat la cules 18.04.1967. Bun de tipar 06.10.1967. Apărut 1967. Tiraj 3 500+130 leg. 1/1 pergamuid. Hîrtie scris tip I A 80 g/m², 16/70×100. Coli editoriale 38,634. Coli de tipar 36. A 5 220 C.Z. pentru bibliotecile mari 575.1 (075,81 C.Z. pentru bibliotecile mici 57.*

Întreprinderea poligrafică „Tiparul", str. Fabrica de chibrituri nr. 9—11, București,
Republica Socialistă România
c. nr. 401

Scanned with OKEN Scanner